

RESUMENES DE LAS COMUNICACIONES

ENDOCRINOLOGÍA I

1. **(420) EL EFECTO APOPTOTICO DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-ALFA (TNF) Y EL LIPOPOLISACARIDO BACTERIANO (LPS) EN ADENOHIPOFISIS ES DEPENDIENTE DE ESTROGENOS.** CANDOLFI MARÍANELA, NAVARRA Santiago, JAITA Gabriela, ZALDIVAR Verónica, PISERA Daniel, SEILICOVICH Adriana

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Nuestros resultados previos indican que el TNF induce apoptosis de lactotrofos de manera dependiente de los estrógenos. En el presente trabajo hemos investigado la influencia de 17-β estradiol (E) y progesterona (P) en la apoptosis (por morfología nuclear con tinción por DAPI) de lactotrofos y somatotrofos (identificados por inmunofluorescencia) inducida por el TNF. En cultivos de células adenohipofisarias de ratas ovariectomizadas (OVX), el TNF aumentó el porcentaje de lactotrofos apoptóticos en presencia de E pero no de E+P [C 1.5, TNF 2.4; E2 3, E+TNF 8 (p<0.001, chi ((2))]; P 1.5, P+TNF 1.2; E+P 1.7, E+ P+TNF 0.9]. El TNF indujo apoptosis de somatotrofos en células de OVX sólo en presencia de E [C 4.5, TNF 2.1; E 10.8, E+TNF 19.2 (p<0.001); P 4.4, P+TNF 2.5; E+P 5.0, E+ P+TNF 2.6]. La estrogenización crónica de ratas OVX (implantes con 1 mg E2) aumentó el número de células TUNEL positivas/campo en cortes de adenohipófisis (p<0.05). La administración i.p. de LPS (250 ug/rata, 8 h) aumentó el índice apoptótico adenohipofisario sólo en ratas crónicamente estrogenizadas (E2 1.62± 0.22, E2+LPS 7.37±1.10, p<0.001). Estos resultados indican que el efecto apoptótico del TNF en lactotrofos y somatotrofos es dependiente de estrógenos, siendo el efecto de estradiol revertido por la presencia de progesterona. Los estrógenos tienen un efecto proapoptótico en adenohipófisis y permiten la aparición de apoptosis inducida por el LPS.

2. **(606) ACTH INDUCE LA EXPRESIÓN DE HEMO OXIGENASA 1 EN CÉLULAS ADRENALES. IMPLICANCIAS FISIOLÓGICAS.** POMERANIEC YAEL, GRION Natalia, GADDA Luciana, COLONNA Cecilia, PODESTÁ Ernesto, CYMERYNG Cora

Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires

Se ha demostrado que el óxido nítrico (NO) es un modulador de la fisiología adrenal. Dado que el monóxido de carbono (CO) y el NO comparten mecanismos de acción, el objetivo del trabajo fue estudiar el sistema generador de CO en células adrenales. Los resultados obtenidos indican que tanto en células de ZF adrenal de rata como en la línea celular murina Y1 se expresan las isoformas 1 y 2 de la hemo oxigenasa (HO). ACTH incrementó la expresión de HO-1 en forma dosis y tiempo dependiente y la actividad enzimática de HO (325,7 ± 27,9 vs 536,9 ± 54,5 pmol/h/mg, p<0,01 n=12). Este efecto se bloqueó por actinomicina D o cicloheximida. ACTH no modificó la t½ del ARNm de HO-1. Análogos permeables de AMPc reprodujeron el efecto de ACTH que fue bloqueado parcialmente por un inhibidor de PKA. Los niveles de TBARS (índice de estrés oxidativo) generados por H[[2]]O[[2]] fueron significativamente menores luego del tratamiento con ACTH (TBARS en nmol/mg: C:109,6±5; H[[2]]O[[2]]: 294±51*; ACTH:

92,8±11; ACTH + H[[2]]O[[2]]: 115,5 ±12; * p<0,01 vs C n=4). La esteroidogénesis se incrementó significativamente en presencia de un inhibidor de HO (257.3 ± 16 vs 311.1 ± 20 nmol/mg, p< 0,05 n=3). Los resultados presentados indican que ACTH induce la expresión de HO-1 en células adrenales y sugieren que esto constituye un mecanismo de defensa celular al estrés oxidativo. Por otra parte, el CO generado podría ser, al igual que el NO, un modulador autócrino o parácrino de la esteroidogénesis adrenal.

3. **(633) EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN XBP-1 DURANTE LA DIFERENCIACIÓN DE OSTEOBLASTOS EN CULTIVO.** ZABELLI ANDRES, MONGIARDINI Elías, BOOT-HANDFORD Ray, WALLIS Gillian

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular. School of Biological Sciences, University of Manchester

XBP-1 es un factor de transcripción que participa en varios procesos de diferenciación celular. Se expresa en osteoblastos y está sujeto a estimulación con PTH aunque se desconoce su función. Con el objeto de relacionar la diferenciación osteoblástica con la expresión de XBP-1 cuantificamos su transcripción basal durante la diferenciación inducida de osteoblastos de la línea MC3T3-E1. Las células se cultivaron durante 0 (control), 2, 5, 7 y 9 días en medio suplementado con ácido ascórbico y β-glicerofosfato (inductores de la diferenciación). Se aisló el ARN total y mediante northern-blot se cuantificó la transcripción de XBP-1 y c-fos (perteneciente a la misma familia de factores de transcripción) y, como control de diferenciación, el receptor PTH/PTHrP (PTHrec). Los resultados obtenidos mostraron que XBP-1 incrementa significativamente su transcripción a partir del día 2 (2.5 veces; p<0.05, n=3) manteniéndose elevada hasta el día 9. c-fos no mostró niveles detectables al día 0, observándose señal autorradiográfica a partir del día 5 que se mantiene hasta el día 9. La transcripción del receptor PTHrec aumentó significativamente (5 veces; p<0.05, n=3) a partir del día 2, manteniendo niveles elevados hasta el día 9. Vemos que XBP-1 incrementa su transcripción durante la diferenciación osteoblástica, al igual que c-fos y PTHrec. Esto sugiere que XBP-1 está involucrado en la diferenciación osteoblástica, probablemente controlando la expresión de otros genes corriente abajo.

4. **(699) ANÁLISIS TOMOGRÁFICO Y MECÁNICO DE LOS EFECTOS ÓSEOS DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO RECOMBINANTE HUMANA (HCH) SOBRE LA ESTRUCTURA ÓSEA EN RATAS ENTERAS Y OVARIECTOMIZADAS.** FELDMAN SARA, COINTRY Gustavo, REINA Paola, FRACALOSI Matías, SARRIÓ Leandro, CAPOZZA Ricardo, CHIAPPE María Angelina, FERRETTI José Luis

Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico, Facultad de Ciencias Médicas, UNR

Para describir los efectos de HCh en ausencia de estrógenos, estudiamos tomográfica y mecánicamente las diáfisis femorales de ratas sham (n=13) ú OX a los 3 ó 6 meses (19), tratadas (9) o no (10) con 100 mUI/d sc de HCh (BioSidus) 3 meses. La OX aumentó los diámetros endo y perióstico, el área y el momento de inercia (MI) de la sección cortical (25, 7, 6, 24%, p<0.01), y redujo la densidad volumétrica (DV) y la rigidez intrínseca (E) del tejido compac-

to (-3, -12%), pero no la rigidez ni la resistencia diafisarias. En la rata sham, HCh mejoró E y la rigidez diafisaria (23, 21%, $p < 0.05$) sin modificar DV, y redujo la resistencia ósea plástica inversamente a la mejora de E, sin alterar la resistencia final. En las OX, HCh aumentó más el perímetro perióstico y el área, MI y contenido mineral (5, 7, 14, 9%, $p < 0.05$), y mantuvo normal DV y E, aumentando 7% la resistencia ósea plástica y final ($p < 0.05$) en función de MI. Correlaciones negativas MI (y) vs E (x) mostraron corrimientos «anabólicos» (arriba/derecha) para OX (vs sham) y HCh (vs OX). Nuestro índice tomográfico de resistencia = $DV \times MI$, que no involucra factores microestructurales, predijo la rigidez pero no la resistencia diafisaria. La OX liberó el crecimiento óseo en ancho y redujo la calidad mecánica tisular. La HCh potenció el 1er. efecto y previno el 2o., desplazando el setpoint homeostático de la rigidez diafisaria, mejorando la resistencia plástica y final, quizá involucrando cambios microestructurales.

5. (730) EFECTO DEL ESTRÉS NEUROGÉNICO REPETITIVO (ENR) Y ALCOHOL (EtOH) SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTETASA (NOS) Y CICLOOXIGENASA (COX) EN GLANDULA ADRENAL (GA) DE LA RATA MOHN. CLAUDIA, SCORTICATI Camila, CELLA Maximiliano, FARINA Mariana, FRANCHI Ana, MASTRONARDI ² Claudio, MCCANN ² Samuel, RETTORI Valeria.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-CONICET). ²Pennington Biomedical Research Center, LSU, Baton Rouge, LA, USA. PICT 99/5-6117

Dada la presencia de mRNA de COX y NOS en GA de rata, estudiamos si ENR y/o EtOH modifican la actividad de dichas enzimas en ratas macho Sprague Dawley ($n=6-8$ /grupo). Control: (C) recibió agua intragástrica (ig); EtOH:EtOH 3g/kg ig 2 veces al día/5 días, ENR:inmovilizadas 2hs/día/5días y EtOH+ENR: combinación de ambos tratamientos. Se midió PRL (RIA) en plasma y actividad NOS (14C-citrulina) y COX (Radioconversión) en GA. Los datos se analizaron por ANOVA y test de Newman-Keuls, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$. PRL aumentó con ENR (C:3.98±0.44 pg/ml; ENR:24.8±6.37***), EtOH bloqueó este efecto (EtOH+ENR: 2.07±0.19***). La actividad NOS fue inhibida por EtOH y ENR (C:1.49±0.12 pmolNO/min/mg prot; EtOH:0.97±0.08**, ENR:1.06±0.07** y EtOH+ENR:0.82±0.11 ***). EtOH disminuyó PGE2 (C:19.09±1.14 % cpm/100mg, EtOH: 12.33±1.02**) mientras que ENR la aumentó. (PGE2 ENR:32.47±3.28***). Se estudió in vitro el efecto de óxido nítrico (NO) sobre la secreción de PGE2 en GA. El nitroprusiato de sodio (NP) estimuló la liberación de PGE2 y corticosterona (B) (PGE2 C:41.8±8 pg/mg, NP:453.6±75.59,***; B C:2.16±0.23 ng/mg, NP:5.23±0.66, **). EtOH no modificó los niveles de B y PGE2 estimulados por NP, pero inhibió la liberación de PGE2 in vitro (EtOH:19.59±1.8**). El alcohol inhibe la actividad de NOS y COX mientras que el ENR inhibe la NOS y estimula la COX en GA in vivo. In vitro EtOH inhibe la liberación basal de PGE2 sin afectar el estímulo de NO y no modifica la secreción basal y estimulada de B por NO.

6. (791) ESTABLECIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA LÍNEA CELULAR OSTEOLÁSTICA (CFR1) AISLADA DE CALOTA CRANEANA FETAL DE RATA. REIGOSA MIGUEL A., MON-GIARDINI Elias, VILLEGAS Nahuel, ZAMBELLI Andrés

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular

Con el objeto de generar un modelo alternativo para el estudio del desarrollo óseo, realizamos un cultivo primario de calota craneana de fetos de rata de 21 días. Las células se disgregaron mediante digestión con colagenasa/tripsina y se cultivaron en D-MEM/10% SFB. Las células mostraron características morfológicas y capacidad proliferativa constantes por más de 70 pasajes. Además respondieron a la diferenciación inducida con ácido ascórbico y β -glicerofosfato manifestando características osteoblásticas típicas: capacidad de sintetizar matriz extracelular, actividad de fosfata alcalina elevada (24.7 nmol pNP/min mg prot), expresión del receptor de PTH/PTHrP y respuesta a PTH 10((-8)) M; ésta última se evaluó midiendo la transcripción del factor XBP-1 observándose un incremento significativo ($p < 0.05$, $n=3$) luego de 2.5 horas de estimula-

ción. La caracterización citogenética demostró que se trata de una línea heteroploide, con un tiempo de duplicación medio de 39.4 ± 6.3 hs, datos comparables a los descriptos en la línea osteoblástica MC3T3-E1. Mediante inmunodetección específica encontramos que las células CFR1 son incapaces de incorporar 5-bromo-2-deoxiuridina, sugiriendo que son timidina quinasa deficientes (TK((-))). Estos resultados demuestran que la línea celular establecida CFR1 constituye un modelo adecuado para estudios sobre matriz extracelular, diferenciación osteoblástica y mecanismo de acción de PTH, siendo además potencialmente apta para hibridación celular.

7. (821) DOS SITIOS DE UNIÓN EN EL RECEPTOR DE PROGESTERONA (RP) EN CARCINOMAS MAMARIOS MURINOS. HELGUERO LUISA, LAMB Caroline, MOLINOLO Alfredo, LANARI Claudia

Instituto de Biología y Medicina Experimental

En experimentos preliminares en carcinomas mamarios murinos (BALB/c) inducidos por acetato de medroxiprogesterona (MPA) habíamos observado respuestas proliferativas in vitro caracterizadas por una curva estimuladora bifásica con incrementos a muy bajas concentraciones. Se evaluó la unión de progestágenos (MPA, R5020) y antiprogestágenos (mifepristona, onapristona) al RP en carcinomas progestágeno-dependientes y progestágeno-independientes que regresionan completamente con antiprogestágenos. Experimentos de saturación con $^3\text{H-R5020}$ y análisis de Scatchard mostraron un sitio de unión de alta afinidad y baja capacidad (Kd: 43 ± 9 pM; $Q = 9 \pm 3$ fmoles/mg de proteína) y el sitio clásico de menor afinidad y alta capacidad (Kd: 9.2 ± 4.2 nM; $Q = 376 \pm 64$ fmoles/mg de proteína). Ambos sitios también se detectaron en útero normal de BALB/c. MPA y antiprogestágenos desplazaron al radioligando de los dos sitios (EC50: 4.8 ± 1.3 pM y 91.4 ± 9.7 nM para MPA, 3.1 ± 0.98 pM y 60.24 ± 15.8 nM para mifepristona y 4 ± 6.1 pM y 94.1 ± 4.7 nM para onapristona). In vitro, el MPA estimuló la proliferación celular a lo largo de una curva bifásica con dos pendientes, una a concentraciones muy bajas (EC50: 1.5 ± 0.7 fM) y la otra en concentraciones mayores (EC50: 0.33 ± 0.3 nM). Estos resultados son las primeras evidencias de la existencia sitios de alta afinidad de RP en ratones y de efectos proliferativos de progestágenos a concentraciones muy por debajo del Kd del receptor nuclear clásico.

8. (1118) EFECTO DE LA LEPTINA EN UN MODELO DE HIPOGONADISMO EN HAMSTER DORADO PONZO OSVALDO, CUTRERA Rodolfo, RIMOLDI Guillermo, BOGGIO Verónica, LÓPEZ MUJICA Ximena, SCACCHI Pablo, CARDINALI Daniel

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires

En el hamster dorado la exposición a fotoperíodo corto provoca hipogonadismo. Objetivo: evaluar la respuesta gonadal a la administración de leptina en un fotoperíodo corto (FC:10-14 L:O) y largo (FL:14-10 L:O). Machos adultos ($n= 8-10$ por grupo), fueron divididos en 4 grupos: controles (FL), controles más leptina (FLL), fotoperíodo corto (FC) y fotoperíodo corto más leptina (FCL). La leptina fue administrada en una dosis de 30 ug/kg ip 60 min. antes del sacrificio. Resultados: El FC produjo una significativa ($p < 0.001$) disminución del peso testicular (FL:2240,3±65,8; FC:317,3±78,7mg/100 g BW), y una marcada atrofia de túbulos seminíferos. La LH mostró una reducción ($p < 0.001$) en el grupo FC (FL:164,9±20,6 vs FC:46,96±3,6 ng/ml). La leptina produjo una reducción de LH en el grupo FLL ($p < 0.001$) (FL:164,9±20,6 vs FLL:58,6±16,8) y en el FC ($p < 0.001$) (FC:46,96±3,6 vs FCL:10,9±2,3). La LH hipofisaria disminuyó ($p < 0.001$) en FC (FL:731±49,2 vs FC:320±47,1). Sin embargo la leptina aumentó ($p < 0.05$) los niveles de LH en el grupo FLL (FL:731±49,2 vs FLL:1062±183), mientras que no la modificó en los animales con fotoperíodo corto (FC:320±47,1 vs FCL:317±5,1). Conclusión: a) El fotoperíodo corto inhibe el eje gonadal a nivel central. b) La leptina produce una inhibición de la liberación de LH en ambos fotoperíodos. c) El aumento hipofisario de LH en FLL podría deberse al bloqueo de la secreción, mientras que la ausencia de cambios en FCL podría explicarse por una inhibición de la síntesis.

GASTROENTEROLOGÍA I

9. (320) HIPERTERMIA Y PROTECCIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA, EN RATAS. LAUDANNO Oscar, BASA E, BEDINI O, CESOLARI J, SAN MIGUEL P.

Gastroenterología Experimental. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario

Hipertermia (H) al increm. las prot. del shock térmico (PST) en muc. gástrica, podría dar protec. ante la injuria del etanol, los AINEs y el Estrés (E). Grupos aleatorios de ratas Wistar, (n=7 c/grupo, 200g, ayuno 24hs agua ad-libitum), se real. los sig. exper.: I. 1. Fisiol. 1 ml orogástrico (OG) en bolo y se esperó 60min. 2. Etanol (Et) 96° 1ml OG 20min (T). 3. H. Las ratas fueron coloc. vertical en un baño de agua hasta ap. xifoides a 42°C 20min. Luego de H a 3,6,9,12,15 y 24 hs. y en dif. grupos, se dio el Et. 4. Pretrat. 30min antes de H. Indometacina (In) 30mg/Kg sc, 3hs después Et. 5. Prazosin (antag. PST) 0.5mg/Kg OG, 3hs después Et. II. 1. In 24hs (T). 2. In, H 24 hs. III 1. E por inmov. e inmersión en agua a 18°C 6hs (T). 2. H 3hs después E. Las ratas fueron sacríf. con sobredosis de éter, laparot., gastrect., tab. % área lesional macroscóp. gástr., medido por planim. comp. e histol. (HE). Se calculó la t Student y ANOVA. % área lesional gástr. dio: I. 1.0%, 2. 35±5, 3. H-Et 3hs: 8±3 (<0.01), 6hs: 10±2, 9hs: 7±4, 12hs: 14±4 (<0.02), 15hs: 29±6 (ns) y 24hs: 38±6 (ns). 4. 45±7 (ns), 5. 51±7 (ns). II. 1. 60±4%, 2. 63±5 (ns). III. 1. 75±6%. 2. 82±4 (ns). La histología dio protección parcial gástrica en H-Et 3, 6, 9 y 12 hs. Conclusiones: 1. H. dio protección gástrica ante el Et durante 12 hs y su mecanismo sería PST y PGs endógenas dependientes. 2. H ante la injuria de AINEs y el E no dio protección gástrica.

10. (508) TRANSPORTE HEPÁTICO DE GLUTATIÓN EN LA COLESTASIS INDUCIDA POR ESTRADIOL-17-GLUCURÓNIDO (E2-17G). MOTTINO ALDO D, VEGGI Luis M., WOOD Marcie I., VORE Mary

Instituto de Fisiología Experimental-Fac. Cs. Bioquim. y Farm. (CONICET-UNR). Graduate Center for Toxicology, University of Kentucky.

En la colestasis reversible por administración de E2-17G se observa alteración transitoria de la localización canalicular de la proteína resistente a multidrogas Mrp2, considerada el principal transportador de glutatión a bilis. En este trabajo se estudió el efecto de E2-17G (15 umol /Kg peso) o su vehículo (V) sobre la secreción biliar y contenido hepático de glutatión in vivo (ratas SD hembras adultas), tanto en la fase aguda (10-30 min) como de recuperación de la colestasis (70-120 min). En el modelo de hígado aislado y perfundido se evaluó el reflujo de glutatión al perfusato en respuesta a E2-17G o V (0-60 min). En ambos modelos se estimó la composición relativa en glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG). E2-17G produjo una disminución (90%, N=3-4, p<0.05) en la secreción biliar de GSH y GSSG respecto de V en la fase aguda sin modificar su contenido hepático. Esta alteración se mantuvo durante la etapa de recuperación del flujo biliar, cuando Mrp2 se ha relocalizado en la membrana canalicular. El reflujo de GSH y GSSG al perfusato fue significativamente mayor en E2-17G que en V (40%, N=3, p<0.05). Estudios de inmunohistoquímica para la proteína marcadora de zonula ocludens ZO-1 demostraron alteración de la estructura de uniones estrechas en respuesta a E2-17G. Los hallazgos sugieren una disminución de la secreción biliar de GSH y GSSG por E2-17G, independiente de su contenido hepático y Mrp2. La alteración podría asociarse a una apertura del camino paracelular.

11. (788) EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCE ALTERACIONES EN LA FUNCIÓN SECRETORA DE SALES BILIARES E INTERNALIZACIÓN DE SU TRANSPORTADOR CANALICULAR (BSEP) EN DUPLAS DE HEPATOCITO AISLADAS DE RATA (DHAR). ROMA MARCELO GABRIEL, MILKIEWICZ Piotr, AHMED-CHAUDHURY Jalal, ELIAS Elwyn, COLEMAN Roger

Instituto de Fisiología Experimental. School of Biosciences y Liver Unit, Universidad de Birmingham, Birmingham, Inglaterra

En trabajos previos, mostramos que niveles pre-necróticos de estrés oxidativo inducen alteraciones en la distribución de actina

pericanalicular. Dado que una normal distribución de la misma es requerida para la inserción de transportadores canaliculares, analizamos si el agente inductor de estrés oxidativo tert-butilhidroperóxido (tBOOH) produce internalización de Bsep y si tal alteración se asocia a cambios funcionales del mismo. Estudios de (inmuno)fluorescencia seguidos de microscopia confocal revelaron que tBOOH (100 µM) indujo una marcada redistribución de actina, acompañada de internalización de Bsep en vesículas intracelulares. Por lo tanto, el % de fluorescencia asociada a actina y Bsep en la zona (peri)canalicular fue reducida un 60±4% y un 62±6%, respectivamente (p<0.001). Tal alteración se asoció a una reducción del 41±2% (p<0.001) en el % de DHAR que acumularon apicalmente el análogo de sal biliar fluorescente colilisisfluoresceína (CLF). Estos efectos fueron completamente prevenidos por el quelante de Ca(2+) intracelular BAPTA/AM (20 µM), por los pan-inhibidores de PKC H7 (100 µM) y estaurosporina (1 µM), así como por el inhibidor de isoformas de PKC dependientes de Ca(2+) Gö6976 (2 µM). Estos resultados sugieren que el estrés oxidativo altera la secreción de sales biliares induciendo internalización de Bsep. Este efecto sería ocasionado por una redistribución de actina, mediada, a su vez, por la activación de isoformas de PKC dependientes de Ca(2+).

12. (939) ATENUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA CON ENALAPRIL POR MECANISMOS REGULATORIOS POST TRANSCRIPCIONALES. CAMINO ALEJANDRA MABEL, PAVETO Cristina, SILVA Marcelo

Universidad Favaloro INGEBI-CONICET. HOSPITAL UNIVERSITARIO AUSTRAL

Introducción: El transforming growth factor β1 (TGFβ1), el inhibidor tisular de la metaloproteína (TIMP-1) y el factor de transcripción Zf9 estimulan la expresión génica de la matriz extracelular (MEC) en la fibrosis hepática. Objetivos: determinar el efecto del enalapril sobre la expresión génica y proteica del TGFβ1, TIMP-1 y Zf9. Materiales y métodos: ratas Wistar inoculadas con tioacetamida (TAA, 600 mg/kg por semana) durante seis semanas y tratadas con enalapril (10 mg/kg/día en agua de bebida) durante seis semanas. Grupos: Cirrótico (solamente TAA), Tratado (TAA+enalapril) y Control. La expresión tisular de ARNm y proteica de TGFβ1, TIMP-1 y Zf9 fue evaluada por Northern y Western blot, respectivamente. La cuantificación del depósito de MEC se estableció por histomorfometría, la activación de las células estrelladas por inmunohistoquímica. Resultados: El enalapril disminuyó el área de fibrosis en un 60%. Si bien la expresión tisular de ARNm de TGFβ1, TIMP-1 y Zf9 no mostró diferencias significativas, el tratamiento disminuyó su expresión proteica (P<0.05). Conclusiones: El enalapril atenúa la fibrosis hepática probablemente a través de un mecanismo regulatorio post transcripcional de los marcadores profibrogénicos estudiados. La disminución de un 80% observada en la activación de las células estrelladas podría deberse a los cambios en la expresión proteica de Zf9 por enalapril. El enalapril podría modificar y/o relacionarse con una respuesta celular pro-apoptótica.

13. (945) PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA CON ENALAPRIL EN UN MODELO EXPERIMENTAL. CAMINO ALEJANDRA MABEL, SILVA Marcelo

Universidad Favaloro, Hospital Austral

Introducción: El tratamiento con enalapril podría ser útil para atenuar el curso de la fibrosis hepática y eventualmente favorecer la reversión del proceso. Objetivos: evaluar el efecto del enalapril sobre un modelo animal de cirrosis establecida. Métodos: ratas Wistar inoculadas con tioacetamida (TAA, 600 mg/kg por semana) y tratadas con enalapril (10 mg/kg/día en agua de bebida). Grupos: TAA (solo TAA hasta semana 7), ENA-prevención (enalapril y TAA durante 13 semanas), ENA-reversión (TAA hasta la semana 7 seguido de enalapril hasta la semana 13), y Control. El grado de fibrosis fue analizado por histomorfometría (GF) y score de Metavir (SM). Resultados: Al final de la semana 13 no hubo regresión espontánea de la cirrosis en el grupo TAA (GF=2.05±0.64%, SM= F4, n=6). Los controles mostraron GF=0.05±0.02%, SM=F0, n=6. El tratamiento con enalapril en la cirrosis establecida (ENA-reversión) fue satisfactorio

en el 72% de los animales (GF=0.51±0.34%, SM=F1-2, n=5), el 28% fue refractario (GF=1.87±0.84%, SM=F4, n=2). La disminución del grado de fibrosis en el grupo preventivo (ENA-prevención) fue 100% satisfactorio (GF=0.47±0.31%, SM=F1-2, n=7). Conclusiones: Tanto el tratamiento de reversión como el de prevención han sido satisfactorios sin mostrar diferencias en el resultado final del grado de fibrosis. Las diferentes respuestas del huésped al enalapril podrían relacionarse con variabilidad en los polimorfismos genéticos del sistema renina angiotensina hepático.

14. (1035) **EL FACTOR NATRIURETICO ATRIAL (ANF) MEDIA SUS EFECTOS EN EL PANCREAS A TRAVES DE LA ACTIVACION DEL RECEPTOR NPR-C.** SABBATINI MARÍA E., DAVIO Carlos, FERNANDEZ Belisario, VATTA Marcelo, BIANCIOTTI Liliana.

Catedra de Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Cátedras de Fisiología y Radioquímica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

En trabajos anteriores demostramos que ANF incrementa la secreción pancreática de forma dosis dependiente siendo su efecto no mediado por el sistema nervioso autónomo e interacciona con secretina y CCK. En el presente trabajo estudiamos la participación del NO y de las hormonas secretina y CCK así como también los posibles segundos mensajeros involucrados. Los resultados mostraron que el pretratamiento con L-NAME no modifica la respuesta del ANF y que los niveles de secretina y CCK medidas por ELISA, no se modifican por infusión de ANF. La administración de 4-23 ANP (agonista específico de NPR-C) mimetizó los efectos del ANF 1µg/kg/h (µl/min/100 g PC); (C:0.16±0.01;ANF:0.31±0.02*;4-23ANP:0.35±0.01*). Este receptor está acoplado a la estimulación de fosfoinosítidos (PI) y/o inhibición de AMPc, por eso estudiamos los efectos de ANF sobre PI y AMPc en acinos pancreáticos aislados. ANF incrementó los PI anulándose su efecto por U-73122 (inhibidor de PLC) (U, PI (%C) C:100±12; ANF1,10 y 100nM:157±12*;214±40*; 319±42*;U:110±10; (ANF+U) :106± 20;105±18;119±10. ANF no modificó los niveles basales ni estimulados por forskolina (FSK) de AMPc (pmol/mg proteínas): C:2.5±0.07; ANF100nM:2.34±0.1;FSK:28.4±2; ANF+FSK: 25.3 ±2. (*:p<0.05vs. Control (C)). Estos resultados indican que el ANF estimula la secreción pancreática en la rata a través del receptor NPR-C acoplado a la activación de PLC, señal intracelular responsable del fenómeno acople excitación-secreción en el páncreas exócrino.

INMUNOLOGÍA I

15. (743) **IL-2, PERO NO CITOQUINAS TH1 O TH2, MODULAN LA EXPRESIÓN DE MICA EN LINFOCITOS T.** MOLINERO LUCIANA, FUERTES Mercedes, FAINBOIM Leonardo, RABINOVICH Gabriel, ZWIRNER Norberto

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas, Fac. de Medicina, UBA

La interacción de MICA con el receptor NKG2D de células T CD8 y NK, dispara una respuesta citotóxica contra células que expresan MICA. Esta molécula se induce por estímulos de estrés, infecciones o neotransformación. Debido a que previamente demostramos que MICA se induce en linfocitos T activados y que dicho proceso depende de la señalización de IL-2, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la modulación de la expresión de MICA en células mononucleares de sangre periférica (CMSPs) por IL-2 y citoquinas Th1 y Th2. Por Western Blot observamos que la expresión de MICA en CMSPs activadas con AcMo anti-CD3 o AcMo anti-CD28/PMA fue inhibida por AG490 (inhibidor de Jaks/STATs). IL-2, pero no IL-4 o IFN-g, ejerció un efecto sinérgico sobre la expresión de MICA en CMSPs activadas con anti-CD3. Además, IL-2 indujo MICA en forma dosis y tiempo dependiente en CMSPs. La preactivación de CMSPs con PHA y el tratamiento con IL-2 en presencia de los inhibidores de Jak/STAT (AG490), Ick/fyn (PP1), p38 MAPK (SB202190), p70((S6)) quinasa (rapamicina) y de NF-kB (sulfasalazina) bloquearon la expresión de MICA, mientras que un inhibidor de la vía de ERK1/2 (U0126) no ejerció ningún efecto. IL-2,

pero no las citoquinas INF-g o IL-4, induce la expresión de MICA en linfocitos T activados por múltiples vías de señalización, lo que podría inducir la susceptibilidad de las células T activadas a la lisis por células que expresan NKG2D como nuevo mecanismo de control de la activación linfocitaria.

16. (749) **ROL DE NF-KB SOBRE LA EXPRESIÓN DE MICA EN LINFOCITOS T MOLINERO.** LUCIANA, FUERTES Mercedes, RABINOVICH Gabriel, FAINBOIM Leonardo, COSTAS Mónica, ZWIRNER Norberto.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas, Fac. de Medicina, UBA. Instituto de Investigaciones Médicas "Alfredo Lanari"

La interacción de MICA con el receptor NKG2D de células T CD8 y NK, dispara la citotoxicidad contra células que expresan MICA. Esta molécula se induce por estímulos de estrés, infecciones o neotransformación. Previamente demostramos que MICA se induce en linfocitos T activados. Considerando que el factor de transcripción NF-kB juega un rol crítico durante la activación linfocitaria, nuestro objetivo fue investigar la participación de NF-kB en la inducción de MICA. Utilizando un inhibidor específico (sulfasalazina, Sz) observamos por Western Blot una inhibición dosis-dependiente de la expresión de MICA en células mononucleares de sangre periférica (CMSPs) activadas con AcMo anti-CD3 o AcMo anti-CD28/PMA. Sz inhibió la degradación de IκB y la translocación de RelA al núcleo. Mediante análisis de secuencia, hallamos un posible sitio kB en el primer intrón del gen de MICA (posición +577, kB-MICA). Por EMSA observamos un retardo en la movilidad electroforética de una sonda kB-MICA con extractos nucleares de CMSPs activadas. Este fenómeno fue inhibido por Sz. Transfecciones transientes de células HEK293 con RelA mostraron que NF-kB por sí solo no es capaz de inducir MICA, indicando la necesidad de otros factores de transcripción. Nuestros datos constituyen la primera demostración de un factor de transcripción que modula la MICA, y sugieren un estricto control transcripcional de su expresión, lo que sensibilizaría a los linfocitos T activados a la lisis por células que expresan NKG2D.

17. (800) **LOS COMPLEJOS INMUNES (CI) INHIBEN LA EXPRESIÓN DE CD14 EN MONOCITOS HUMANOS.** BARRIONUEVO PAULA, BEIGIER BOMPADRE Macarena, FERNÁNDEZ Gabriela, GÓMEZ Sonia, PALERMO Marina, ISTURIZ Martín.

División Inmunología, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina.

La molécula CD14 es necesaria para la transducción de la señal de los lipopolisacáridos bacterianos (LPS) a los monocitos/macrófagos. Por lo tanto la regulación de CD14 es importante en fenómenos inflamatorios. En este trabajo investigamos el efecto de los CI ovoalbúmina (OA)-IgG anti-OA sobre la expresión de CD14 en monocitos humanos. La expresión de CD14 fue evaluada por citometría de flujo. Los resultados obtenidos demuestran que los CI inducen una inhibición de la expresión basal de CD14. El resultado expresado como % de MIF del control ± SEM fue 26 ± 3 (p<0,01 vs control; n=22). El N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (fMLP), otro poderoso agente quimiotáctico, no modifica la expresión de CD14. Los CI inhiben la expresión de CD14 de manera reversible y dosis dependiente. Teniendo en cuenta que los CI son capaces de inducir eventos secretorios en los monocitos, evaluamos el efecto de los sobrenadantes de células mononucleares tratadas con CI sobre la expresión de CD14. El resultado expresado como % de MIF del control ± SEM fue 75 ± 2 (p<0,01 versus control; n=5). Los sobrenadantes de polimorfonucleares (PMN) tratados con CI también fueron capaces de inhibir la expresión de CD14. Estos resultados nos permiten concluir: 1) Los CI inducen una drástica y reversible inhibición de la expresión de CD14, 2) El efecto de los CI es mediado por productos liberados por las células mononucleares y PMN, 3) La inhibición de CD14 por CI podría ser relevante en fenómenos inflamatorios.

18. (993) **MECANISMO DE ACTIVACIÓN DE NEUTRÓFILOS HUMANOS POR ADN BACTERIANO.** CHORNY ALEJO, GEFFNER Jorge, VERMEULEN Mónica, SALAMONE Gabriela, GAMBERALE Romina, SCHETTINI Jorge, TREVANI Analía

Instituto de Investigaciones Hematológicas - Academia Nacional de Medicina

Previamente demostramos que el ADN bacteriano, pero no el de vertebrados, induce la activación del neutrófilo, evaluada en función del cambio de forma (CF), el shedding de L-selectina y la inducción de quimiotaxis. En este trabajo demostramos que la exposición de neutrófilos a ADN de E coli (ADNE, 100 µg/ml; 18 hs a 37°C) induce un incremento del 850 ± 32 % en la producción de IL-8 determinada por ELISA, respecto de la observada en neutrófilos no estimulados (n=5; p<0.01). Por otra parte, aunque determinamos por RT-PCR que los neutrófilos expresan el receptor para ADN CpG, TLR9, la activación no depende de la presencia de motivos CpG puesto que: (1) oligodeoxinu-cleótidos conteniendo motivos CpG no inducen la activación del neutrófilo; y (2) la metilación en citidina del ADNE con metilasa Sssl, no inhibe su capacidad de inducir el CF del neutrófilo evaluado por FACS (%CF: 66±7 y 60±7; ADNE y ADNE metilado, respectivamente, n=5). La activación tampoco involucra a la integrina CD11b/CD18, ya que fue observada en ausencia y en presencia de cationes divalentes (%CF: 53±5 y 55±7, n=5; neutrófilos cultivados en ausencia o presencia de 2 mM EDTA, respectivamente); ni depende de la presencia de residuos de adenina y citidina metilados, ya que fue observada también con ADNE de la cepa SCS110 (dam(-), dcm(-)). Estos resultados reafirman nuestra hipótesis respecto de la capacidad del ADN bacteriano de inducir la activación del neutrófilo a través de un mecanismo CpG independiente.

- 19. (1132) GALECTINA-1 EJERCE SU EFECTO ANTI-INFLAMATORIO IN VITRO E IN VIVO A TRAVÉS DE LA MODULACIÓN DE LA ACTIVACIÓN DE NF-KB.** TOSCANO MARTA, MOLINERO Luciana, RUBINSTEIN Natalia, FAINBOIM Leonardo, COSTAS Monica, ZWIRNER Norberto, RABINOVICH Gabriel.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Facultad de Medicina, UBA. Instituto Inv. Médicas A. Lanari

Galectina-1 (Gal-1), a través de la interacción con glicoconjugados específicos, reveló una potente actividad anti-inflamatoria e inmunosupresora in vitro y en modelos experimentales de autoinmunidad. Sin embargo, las bases moleculares de este efecto aún no han sido dilucidadas. El objetivo del presente estudio fue investigar la capacidad de Gal-1 de modular la actividad de NFκB, factor de transcripción involucrado en respuestas inflamatorias. A tal fin células mononucleares de sangre periférica fueron expuestas por 15, 30 y 60 min a la acción de TNF-α (10 ng/ml) en presencia o ausencia de Gal-1 (0,5, 2, 10 y 40 µg/ml). Al cabo de estos períodos se prepararon extractos nucleares para ensayos de movilidad electroforética (EMSA) y extractos totales para evaluar la degradación del inhibidor IκBα por Western blot. Galectina-1, fue capaz de inhibir en forma dosis dependiente la activación de NFκB inducida por TNF-α. Este efecto se evidenció a través de la capacidad de Gal-1 de bloquear la degradación de IκBα inducida por TNF y la subsecuente translocación al núcleo de NFκB. El efecto inhibitorio máximo se observó a los 30 min de incubación con concentraciones de Gal-1 de 10 µg/ml. La inhibición de la degradación de IκBα por Gal-1 fue también observada in vivo en un modelo experimental de inflamación ocular. El presente estudio constituye la primera evidencia sobre la participación de NFκB en las propiedades anti-inflamatorias de Gal-1 y sus implicancias en fenómenos autoinmunes.

NEUROCIENCIAS I

- 20. (286) LA L-LEUCINA Y EL ÁCIDO L-2-CETOISOCAPROICO INDUCEN LIPOPEROXIDACIÓN Y DISMINUYEN LAS DEFENSAS ANTIOXIDANTES EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS.** BRIDI RAQUEL, SGARBI Miriam, ARALDI Janaina, DURIGON Karina, TESTA Carla, WAJNER Moacir, DUTRA-FILHO Carlos

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Bioquímica - UFRGS

Introducción: La enfermedad Jarabe de Arce (MSUD, Maple Syrup Urine Disease) es una entidad autosómica recesiva causada por la deficiencia del complejo deshidrogenasa de los α-cetoácidos de

cadena ramificada, conllevando al acúmulo de los aminoácidos leucina (LEU), valina e isoleucina y de sus respectivos ceto-ácidos, 2-ceto-isocaproico (2KC), 2-ceto-3-metil-valérico y 2-ceto-isovalérico. Se caracteriza clínicamente por severas alteraciones neurológicas cuyos mecanismos fisiopatológicos aún no han sido esclarecidos. Objetivos: Investigar el efecto in vitro de la LEU y del 2KC sobre la lipoperoxidación (LPO) a través de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y sobre las actividades de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y peroxidasa del glutatión (GSH-Px) en corteza cerebral de ratas. Resultados: Se observó un incremento significativo de las TBARS comparado con los controles para 2,5mM y 5mM de LEU [F(3,20)=12,47 p<0,0001; n=6] y para 5mM de 2KC [F(3,16)=4,81 p<0,05; n=5]. Se evidenció una disminución significativa de la actividad de la CAT para 5mM de LEU [F(3,20)=3,99 p<0,05; n=6]. GSH-Px fue inhibida también por 5mM de LEU [F(3,16)=4,23 p<0,05; n=5] y por todas las concentraciones de 2KC [F(3,16)=6,07 p<0,01; n=5]. La actividad de la SOD no fue modificada. El incremento de la LPO y la inhibición de las enzimas antioxidantes sugieren que el estrés oxidativo podría estar involucrado en la fisiopatología de la MSUD.

- 21. (434) EL ÁCIDO 3-HYDROXIGLUTÁRICO INDUCE ESTRÉS OXIDATIVO EN CEREBRO DE RATAS.** LATINI ALEXANDRA, SCUSSATO Karina, BUFFON Vanessa, LLESUY Susana, BELLÓ-KLEIN Adriane, WAJNER Moacir

Dpto Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Depto Fisiología, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

El ácido 3-hidroxi-glutárico (3-HGA) se acumula en los tejidos de los individuos afectados por la deficiencia en glutaril-CoA dehidrogenasa (DGD). DGD es una neurometabolopatía autosomal recesiva caracterizada por severas alteraciones neurológicas cuya fisiopatología aún no está completamente establecida. Objetivo: investigar el efecto in vitro del 3-HGA sobre la lipoperoxidación (LPP) en diferentes estructuras cerebrales y sobre las actividades de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT), peroxidasa del glutatión (GSH-Px) y dismutasa del superóxido (SOD) en corteza cerebral de ratas. En ratas Wistar de 30 días de vida se evaluaron la LPP y las enzimas antioxidantes por métodos espectrofotométricos en presencia de 3-HGA (0,01 a 1mM). LPP fue también evaluada en presencia de 3-HGA (1mM) con ácido ascórbico (AA 0,2mM) + a-tocoferol (a-Toc 2,5mM) y con L-NAME (0,4mM). El 3-HGA incrementó la LPP significativamente con respecto a los controles en corteza cerebral [F(3,20)=4,61; p<0,05; n=6] y en estriado [F(3,28)=4,15; p<0,05; n=8]. La co-incubación en corteza cerebral con AA y a-Toc previno la LPP [F(3,16)=5,40; p<0,01; n=5] mientras que con L-NAME 0,4mM fue parcialmente atenuada. CAT fue inhibida significativamente en corteza cerebral [F(3,12)=10,39; p<0,05; n=4]. Los resultados sugieren que el estrés oxidativo podría estar involucrado en los mecanismos fisiopatológicos que conducen al característico daño cerebral en los pacientes afectados por la DGD.

- 22. (572) FACTOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DEL CEREBRO (BDNF): UN POSIBLE INTERMEDIARIO EN LA ACCIÓN NEUROPROTECTORA DE LA PROGESTERONA (PROG).** GONZÁLEZ SUSANA, LABOMBARDA Florencia, GONZALEZ DENISELLE Claudia, DE NICOLA Alejandro.

Instituto de Biología y Medicina Experimental

Estudios recientes señalan a las neurotrofinas, entre ellas BDNF, como mediadores de la neuroprotección esteroidea. BDNF ha sido también asociado a regeneración luego del trauma de la médula espinal (ME) o sección axonal. Previamente observamos efectos de PROG sobre varias biomoléculas en la ME lesionada, tales como colina-acetiltransferasa, Na,K-ATPasa, GAP-43 y óxido nítrico sintetasa. En este trabajo empleamos inmunohistoquímica e hibridización in situ (ISH) para estudiar los efectos de PROG sobre la expresión neuronal de la proteína y del ARNm del BDNF luego de 72 hs de transección (TRX) de la ME. La ISH cuantitativa demostró que TRX disminuyó un 50% el ARNm para BDNF (Control: 53.5 ± 7.5 granos/mm² vs. TRX: 27.5 ± 1.2, p<0.05). El tratamiento con PROG (4 mg/kg/día x 3 días s.c.) aumentó significativamente la ex-

presión del ARNm en los animales lesionados (TRX + PROG 77.8 ± 8.3, $p < 0.001$ vs. TRX). PROG aumentó, además, la intensidad de la inmunomarcación para BDNF (ILIGV/um²) en los animales lesionados (TRX 0.13 ± 0.01 vs. TRX + PROG: 0.20 ± 0.01, $p < 0.01$). El análisis de los histogramas de densidad ($X(2) = 812.73$, $p < 0.0001$) mostró un 70% de neuronas intensamente inmunoreactivas en el grupo TRX + PROG y solo un 6% en TRX ($p < 0.001$). Los resultados demuestran que PROG estimula la síntesis del BDNF endógeno, el que mediante acciones no bien conocidas (paracrin, autocrinas, intracrin) contribuiría a los efectos protectores de la hormona en la injuria de la ME.

23. (628) ESTUDIO POLISOMNOGRÁFICO Y DE MET-ENCEFALINA PLASMÁTICA EN SUEÑO Y VIGILIA EN PACIENTES CON CEFALEAS PRIMARIAS. FIGUEROLA MARÍA DE LOURDES, FLESTON Jorge, MEDINA Carlos, BRUERA Osvaldo, BARONTINI Marta.

CEDIE CONICET; Sección Cefaleas, Neurología, Htal de Clínicas y Neurofisiología, Htal P Garrahan.

La relación entre trastornos del sueño y cefaleas es complejo y difícil de analizar. Ambos síntomas pueden tener relaciones casuales o pueden estar asociados en el mismo paciente y potenciarse sinérgicamente. De acuerdo a la Clasificación Internacional de Trastornos del Sueño las cefaleas relacionadas con el sueño serían la migraña (MSA) y la cefalea en racimos (CR). A 15 pacientes divididos en tres grupos según la cefalea primaria que presentaban (MSA n=5; CR n=5; cefalea tipo tensión crónica (CTTC) n=5) se les realizó una polisomnografía (PSG) a efectos de evaluar desórdenes durante el sueño. Además se determinó met-encefalina plasmática (ME) antes de despertar, al despertar y luego de la fotoestimulación. No se detectaron alteraciones en los registros PSGs. No encontramos diferencias significativas entre los tres tipos de cefaleas en los niveles de ME plasmática en los distintos tiempos estudiados. Los pacientes con CR tuvieron un incremento significativo de los niveles de ME al despertar (0.28±0.07) comparado con los valores durante el sueño (0.16±0.03), el grupo de MSA presentó una disminución significativa durante la fotoestimulación (0.22±0.02) comparada con el despertar (0.32±0.06) mientras que los pacientes con CTTC no mostraron diferencias entre las tres determinaciones. ($X \pm SEM$, pmol/ml, ($p < 0.05$)). La variación de la ME estaría relacionada con algunas manifestaciones clínicas de estas cefaleas como la paciente temporal de la CR y los fenómenos gatillo de la MSA.

24. (637) LA MOTIVACION EXPLORATORIA Y LA NEUROGENESIS DEL GIRO DENTADO SE ENCUENTRAN DISMINUIDOS EN RATONES DIABETICOS POR ESTREPTOZOTOCINA (STZ). SARAVIA FLAVIA, ALVAREZ-TORO Egdardo, REVSIN Yanina, BAZAN Arturo, DE NICOLA Alejandro.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Fac. Medicina UBA. Fac. Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo

La diabetes tipo I se asocia con alteraciones del aprendizaje y memoria, ligadas al hipocampo y amígdala. En ratones espontáneamente diabéticos (DB) o tratados con STZ observamos alteraciones gliales y neuronales del hipocampo vinculadas con neurodegeneración y estrés oxidativo. Objetivo: explorar aspectos conductuales y bioquímicos de ratones tratados con STZ. Para el estudio comportamental, ratones C57BL/6 machos DB y controles (CT) fueron evaluados por su aprendizaje y memoria en respuesta a la evitación condicionada ligada a un tono de ultrasonido. No se apreciaron diferencias en la latencia de escape ni en la eficiencia de la memoria. Sin embargo, los DB exhibieron una disminución significativa de la motivación exploratoria en un laberinto en cruz elevado asimétrico, parámetros ligados a miedo y ansiedad. En el estudio bioquímico, los CT y DB fueron inyectados con bromodesoxiuridina que se incorpora al ADN en división permitiendo evaluar la proliferación neuronal en el giro dentado. Los DB mostraron una drástica disminución del 70% (CT 10.8 ± 1.7, DB 2.9 ± 1.4 cel. $p < 0.001$). Considerando el papel de la amígdala basolateral en la consolidación de memoria, miedo

y ansiedad, estudiamos la expresión de Fos, índice de activación neuronal. En los DB, el número de núcleos positivos fue mayor que en los CT (CT 28.3 ± 9.5 DB 260.7 ± 11.1 $p < 0.0001$). Estos cambios sugieren que en la diabetes experimental existe compromiso adicional de la amígdala y alteraciones de la neurogénesis hipocampal.

25. (644) BASES DE NEUROPROTECCION POR PROGESTERONA (PROG) EN UN MODELO GENETICO DE NEURODEGENERACION DE LA MEDULA ESPINAL. GONZALEZ DENISELLE MARÍA CLAUDIA, LOPEZ-COSTA Juan, GARAY Laura, GONZALEZ Susana, YORIO Alberto, DE NICOLA Alejandro.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Dto de Bioquímica Humana e Instituto de Biología Celular y Neurociencias, Facultad de Medicina, UBA.

El ratón Wobbler (Wr), modelo de Esclerosis Lateral Amiotrófica, presenta degeneración de motoneuronas espinales. Considerando que PROG provee protección en la injuria e isquemia, estudiamos su rol en la neurodegeneración. Ratones controles (CTL) y Wr de 2 meses permanecieron sin tratamiento, o recibieron un pellet de PROG 20 mg x 15 días. Morfológicamente, las motoneuronas de Wr mostraron vacuolización a nivel del retículo endoplasmático y/o aparato de Golgi y mitocondrias con crestas dañadas, perfil indicativo de muerte celular tipo II o citoplasmática. En contraste, ratones Wr + PROG presentaron reducción del no. de células vacuoladas por unidad de área (Wr: 18 ± 2.2 vs Wr + PROG: 11 ± 0.8 x 10⁽⁻⁵⁾), $p < 0.05$ y ultraestructura mitocondrial preservada. Como correlato bioquímico, se cuantificó por hibridización in situ el ARNm para la subunidad alfa 3 de la Na⁺,K⁺, ATPasa, observándose reducción del 50% en las motoneuronas de Wr respecto a CTL. PROG administrada a Wr restauró parcialmente la expresión del ARNm: CTL (a): 40.5 ± 6.7 granos/área, Wr (b): 22 ± 1, Wr + PROG (c): 34.1 ± 2.7, b vs a: $p < 0.001$ y b vs c: $p < 0.05$. Conclusión: La PROG rescata las motoneuronas de la neurodegeneración e incrementa la expresión del ARNm de la bomba de sodio, enzima esencial para el flujo iónico, neurotransmisión, mantenimiento del potencial de membrana y recaptación de nutrientes. Se sugiere un nuevo rol para PROG en la prevención de la muerte neuronal en enfermedades neurodegenerativas.

26. (810) RESPUESTA ANSIOGÉNICA EN RATAS HEMBRA GENÉTICAMENTE HIPOPROLACTINÉMICAS (IFL NU). EFECTO DE ESTRÉS Y DE DIAZEPÁN. RODRÍGUEZ ECHANDÍA EDUARDO L., GONZÁLEZ JATUFF Adriana s., JAHN Graciela.

Facultad de Ciencias Médicas, UNCUYO, Laboratorio de Reproducción y Lactancia y Unidad de Farmacología y Comportamiento, IMBECU

Las ratas IFL Nu (Nu) son hipoprolactinémicas, tienen lactancia deficiente y alteraciones en dopamina. Exhiben además respuestas hormonales aumentadas al estrés. Por esta razón hicimos un estudio comparativo de ansiedad y respuesta a estrés y a DZP. Grupos de 6-7 ratas hembras Wistar (Wi) o Nu fueron tratadas por 4-5 días con DZP (3 mg/kg) en el agua de bebida (DZP); no los controles (C). Cada rata fue observada (5 min) en test de brazo en cruz en condiciones basales (B) o luego de un stress de 5 min. de inmovilización (S). Las ratas Nu tuvieron mayores scores basales de inmovilidad (76,5 ± 13,9 vs. Wi 0 ± 0 seg. $p < 0.05$), y menor número de rears (1 ± 0,36 vs. Wi 4 ± 0,36, $p < 0.05$). La inmovilidad en Nu tendió a revertirse por estrés. Hubo mayor frecuencia de asomos, menor latencia de ingreso y mayor tiempo de permanencia en Nu B-DZP en brazo abierto con respecto a Nu S-DZP. El Aseo aumentó en las ratas Wi-DZP, tanto en B-DZP como en S-DZP. Ésto no se observó en Nu, su aseo en los subgrupos DZP fue significativamente menor que en Wi-DZP. Concluyendo, las ratas Nu exhibieron hipoactividad basal. El estrés redujo la inmovilidad, sin afectar otros parámetros. DZP mejoró los parámetros pro-conflictivos basales, quizás contrarrestando neofobia, pero no revirtió el efecto de estrés. Las diferencias en los sistemas de PRL, GH, Oxitocina y DA entre Nu y Wi podrían explicar en parte las alteraciones comportamentales, pero sugieren investigar diferencias en el sistema GABA-BZD.

- 27. (977) PRESENCIA DE ALTOS TITULOS DE ANTICUERPOS CAPACES DE BLOQUEAR LA REACTIVIDAD IGM ANTI-GM1 EN PACIENTES CON NEUROPATIA MOTORA MULTIFOCAL.** LOPEZ PABLO, VILLA Andrés, DI EGIDIO Marianna, SAIZAR Roberto, SICA Roberto, NORES Gustavo.

Dpto. de Química Biológica-Fac. Cs. Químicas-Universidad Nacional de Córdoba-CIQUIBIC-CONICET. Servicio de Neurología-Hospital Ramos Mejía-Ciudad de Buenos Aires

La Neuropatía Motora Multifocal (NMM) es una neuropatía motora crónica de muy lenta evolución. Altos títulos de anticuerpos IgM anti-GM1 han sido hallados en un 33% a 60% de los casos, los cuales han sido postulados como responsables del bloqueo de la conducción motora característica de la enfermedad. Debido al hallazgo de la ausencia de anticuerpos IgM anti-GM1 naturales en algunos pacientes con NMM decidimos estudiar la presencia de un mecanismo de regulación sobre estos anticuerpos. Así observamos que la fracción IgG de pacientes con ausencia de anticuerpos IgM anti-GM1 es capaz de inhibir anticuerpos IgM anti-GM1 humanos pero no anticuerpos anti-GM1 aislados de conejos inmunizados con GM1. Esto demostró que la inhibición no es producida por GM1 presente como parte de un complejo inmune en la fracción IgG. La incubación de la fracción IgG con una columna de afinidad conteniendo GM1 y el posterior análisis de la fracción retenida por esta columna a través de HPTLC-Inmunotinción demostró la presencia de anticuerpos IgM anti-GM1 con cambios de especificidad ausentes en suero normal. Un análisis en función del tiempo demostró que el mecanismo de regulación de anticuerpos anti-GM1 se correlaciona con la expresión clínica del paciente. Estos resultados demuestran la presencia de un mecanismo de regulación espontáneo de anticuerpos IgM anti-GM1 mediado por IgG en el suero de pacientes con NMM, el cual presenta una clara correlación con la expresión clínica de estos pacientes.

ONCOLOGÍA I

- 28. (494) CARCINOMA COLORECTAL: DETECCION DE MICRO-METASTASIS EN GANGLIOS LINFATICOS PERITUMORALES MEDIANTE TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR.** DENNINGHOFF VALERIA, ROMA Andres, ALVAREZ Claudina, PAES DE LIMA Andrea, ELSNER Boris.

CEMIC Departamento de Patología, Hospital de Clínicas "Jose de San Martin"

La sobrevida de los pacientes con carcinoma colorrectal disminuye con la diseminación metastásica de la enfermedad. Ello implica que la correcta valoración del estadio tumoral es esencial para la determinación del pronóstico y un adecuado tratamiento. Se estudiaron prospectivamente 162 ganglios linfáticos de 30 pacientes con carcinoma de colon, dos Dukes A, diecinueve Dukes B y nueve Dukes C. Los ganglios linfáticos fueron disecados en fresco en las piezas de resecciones colónicas. Todos los ganglios se seccionaron en mitades, una de las cuales se almacenó en nitrógeno líquido para su ulterior estudio por técnicas de Biología Molecular, mediante la expresión del antígeno Carcinoembrionario. La otra mitad fue fijada en formaldehído al 10% e incluido en parafina para su estudio patológico e inmunohistoquímico. Mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa Reversa se observó un aumento del 50% de la sensibilidad en la detección de micrometástasis para los Dukes A-B y se detectó la expresión de dicho antígeno en el total de los casos Dukes C. Según el estudio estadístico (SOMERS), en la negatividad histológica, Dukes A y B, existe diferencia significativa, con un SD: 0.197. La técnica RT-PCR desarrollada para el CEA es específica, sensible y de gran utilidad para la detección de micrometástasis en ganglios linfáticos peritumorales en pacientes con carcinoma de colon, pudiendo modificar la estadificación y tratamiento de los pacientes con estadio II.

- 29. (591) FACTOR DE CRECIMIENTO SEMEJANTE A LA INSULINA TIPO 1 (IGF-1) Y SU RECEPTOR (IGF-1R) EN LEUCEMIAS LINFÁTICAS CRÓNICAS B (LLC-B).** SCHILLACI ROXANA, GALEANO Adriana, SAPIA Sandra, BEZARES Raimundo

Instituto de Biología y Medicina Experimental. Sanatorio Mater Dei y Policlínica Bancaria, Buenos Aires

La LLC-B se caracteriza por acumulación de linfocitos por un defecto en su apoptosis. El IGF-1 impide la apoptosis de algunas células hematopoyéticas y su receptor expresado en linfocitos B favorece el pasaje de pro-B a pre-B. Los objetivos de este trabajo fueron: i) determinar los niveles séricos de IGF-1 (sIGF-1) y su síntesis por los linfocitos LLC (LL). ii) analizar el valor pronóstico de la expresión del IGF-1R. Ingresaron al estudio 22 pacientes (p) con LLC-B en los que se determinó sIGF-1 y en LL purificados y cultivados en medio sin suero 48Hs por RIA. El ARNm de IGF-1 se determinó por RT-PCR y la expresión del IGF-1R y CD 38 por citofluorometría. Observamos sIGF-1 elevado en 10/22 p (287-514 ng/ml). En 16/19 p se detectó ARNm para IGF-1 en LL, el cual se expresó en los 10 p con sIGF-1 elevado. En medios condicionados se detectó la presencia de IGF-1 en 5/8 p (260 a 510 pg/ml). El IGF-1R se expresó en 9/22 casos, mientras el CD38 (más del 10% de células positivas) en 7/22 casos, 5 de los cuales también expresaron IGF-1R. Estos resultados demuestran que los linfocitos de LLC-B expresan ARNm del IGF-1 y que lo sintetizan in vitro. Esto sugiere que IGF-1 podría actuar en forma autócrina e incluso podría relacionarse con el incremento del sIGF-1. Además, se halló una asociación entre la expresión de CD38 con la del IGF-1R lo cual, confirmado con mayor número de pacientes, podría conferirle tener valor pronóstico.

- 30. (729) EL TGF β HEPATOCITARIO PARTICIPA EN LA APOPTOSIS POR INTERFERÓN ALFA-2B EN FOCOS PRENEOPLÁSICOS.** ALVAREZ MARÍA DE LUJÁN, RONCO Teresa, MONTI Juan, OCHOA J. Elena, CARNOVALE Cristina, CARRILLO María Cristina

Instituto de Fisiología Experimental (CONICET), Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR

En un trabajo previo demostramos que el Interferón alfa-2b (IFN) incrementa la apoptosis en focos preneoplásicos de hígado de rata (Hepatology 2002; 35:824-833.) En este trabajo evaluamos la posible participación del TGF β en dicha apoptosis. Los animales se dividieron en 6 grupos (n= 5 c/u): sujetos a un modelo iniciación-promoción (G1), tratados con IFN durante: a) iniciación-promoción (G2), b) iniciación (G3), c) promoción (G4); sujetos sólo al estadio de iniciación (G5) y tratados con IFN en este período (G6). Los niveles séricos de TGF β en ng/ml (medidos por ELISA) en los animales tratados con IFN aumentaron (G1= 137 \pm 3; G2= 142 \pm 3*; G3= 151 \pm 2*; G4= 142 \pm 3*; G5= 127 \pm 3; G6=138 \pm 1#), al igual que los niveles hepáticos de Smad 2 y 3 (mediadores de señalización intracelulares del TGF β) (G1= 100%; G2= 136 \pm 3%;* G3= 135 \pm 4%*; G4= 89 \pm 5%; G5= 100%; G6=152 \pm 4%#; *p<0,05 vs. G1, #p<0,05 vs. G5). Para evaluar el origen del TGF β se cultivaron hepatocitos, células de Kupffer y macrófagos peritoneales de los animales G1 y G5 en ausencia y presencia de IFN. Los resultados indicaron liberación de TGF β (ng/ml) al medio de cultivo a partir de los hepatocitos estimulados con IFN (G1: sin IFN= 8,4 \pm 0,8; con IFN= 104 \pm 43*; G5: sin IFN= 2,4 \pm 0,6; con IFN= 14 \pm 1*; *p<0,05) pero no respondieron al estímulo Kupffer ni macrófagos peritoneales. En conclusión, el TGF β producido localmente por los hepatocitos de los hígados preneoplásicos está implicado en la apoptosis por IFN de los focos.

- 31. (785) REGULACIÓN HORMONAL EN CO-CULTIVO DE LÍNEAS CELULARES ESTROMAL Y EPITELIAL DERIVADAS DE UN CARCINOMA PROGESTÁGENO-DEPENDIENTE.** LAMB CAROLINE, FABRIS Victoria, HELGUERO Luisa, EFEYAN Alejo, SIMIAN Marina, SANJUAN Norberto, MOLINOLO Alfredo, LANARI Claudia

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Buenos Aires

De un cultivo primario de un carcinoma mamario murino progestágeno-dependiente generamos dos líneas celulares. MC4-L4E, de morfología típicamente epitelial, fue clonada por dilución límite; MC4-L4F, de crecimiento fusiforme, se seleccionó por pegado diferencial. MC4-L4F es citoqueratina negativa y muestra características mesenquimáticas poco diferenciadas por microscopía electrónica.

Expresa receptores de estrógeno (RE), pero no de progesterona (RP) y es estimulada por TGF β o EGF (Ej, índice de incorporación de 3 H-timidina, Control: 1 ± 0.27 ; TGF β (1 ng/ml): 2.63 ± 0.25 , $p < 0.001$). In vitro diferencia a lipoblastos (por estimulación con isobutilmetilxantina, dexametasona e insulina), no forma colonias en agar blando y no es tumorigénica. MC4-L4E es epitelial (citoqueratina positiva), se inhibe con el agregado de TGF β (Ej: Control: 1 ± 0.21 ; TGF β (1 ng/ml): 0.26 ± 0.15 , $p < 0.001$). Es tumorigénica en hembras BALB/c; origina carcinomas ductales que expresan RE y RP y son metastásicos en pulmón. Se inhibe con 17- β -estradiol (E[[2]]) y regresiona con RU486 ($p < 0.001$). En cultivo de ambas líneas se observó un efecto sinérgico en la incorporación de 3 H-timidina (Ej: MC4-L4F: 1 ± 0.41 ; MC4-L4E: 0.90 ± 0.21 ; F+C: 4.86 ± 1.22 , $p < 0.001$), que fue mayor en presencia de E[[2]] ($p < 0.001$). Describimos un modelo para el estudio in vitro de relaciones epitelio-estroma tumoral. Estos resultados jerarquizan el rol del estroma tumoral en la respuesta a hormonas.

- 32. (799) REGULACION DE LA ACTIVIDAD DE ENZIMAS PROTEOLITICAS POR ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA (MPA) EN CELULAS DE CARCINOMA MAMARIO MURINO PROGESTAGENO-DEPENDIENTES.** CARNEVALE ROMINA, SCHILLACI Roxana, DAROQUI Cecilia, PROIETTI Cecilia, SALATINO Mariana, CHARREAU Eduardo, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa, ELIZALDE Patricia V.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Instituto de Oncología Angel H. Roffo

Las enzimas proteolíticas capaces de degradar la matriz extracelular han sido implicadas en la progresión tumoral, invasión y metástasis. Existen muy pocas evidencias respecto a la modulación de la actividad de estas enzimas por progestágenos en cáncer de mama. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la regulación por MPA de la actividad de la serino proteasa activadora de plasminógeno tipo urokinasa (uPA) y de las metaloproteasas 9 y 2 (MMP-9 y MMP-2) en células de carcinoma mamario murino progestágeno-dependientes C4HD. La actividad proteolítica se evaluó, mediante zimogramas de caseína y plasminógeno para uPA ó gelatina para las MMPs, en los medios condicionados de células C4HD tratadas por 24hs. El tratamiento de las células con MPA (10nM) redujo significativamente la actividad de uPA ($51 \pm 2\%$), de MMP-9 y MMP-2 ($44 \pm 1\%$ y $58 \pm 1\%$ respectivamente). La inhibición de la actividad de uPA fue revertida totalmente por el tratamiento de las células C4HD con el antiprogestágeno RU486 (10nM) y el inhibidor específico de MEK-1 PD98059 (10 μ M). Sin embargo, la disminución de la actividad de las MMPs fue revertida totalmente sólo en presencia de RU486. Estos resultados demuestran que el MPA es capaz de regular la actividad de las proteasas uPA, MMP-9 y MMP-2 a través del receptor de progesterona y proporcionan la primera evidencia de la participación de las MAPKs en la modulación de la actividad de uPA por progestágenos en cáncer de mama.

- 33. (832) REMODELACIÓN TISULAR DURANTE LA REGRESIÓN DE UN TUMOR DE MAMA PROGESTÁGENO-DEPENDIENTE (PD).** SIMIAN MARINA, LANARI Claudia, MOLINOLO Alfredo

Instituto de Biología y Medicina Experimental

Numerosos trabajos en la bibliografía muestran que las proteasas son esenciales en la progresión tumoral, pero hay pocos datos en cuanto a su papel en la regresión. En el carcinoma mamario murino PD C4-HD, que regresiona con estradiol (E[[2]]) y el antiprogestágeno RU486, habíamos analizado la actividad proteolítica y mostramos regulación negativa por progestágenos e incremento durante la regresión hormonal. Para ver si el aumento observado tiene un papel funcional durante la regresión analizamos ratones tratados con E[[2]] y RU486 y controles no tratados. En las lesiones no tratadas la técnica de PAS (Periodic Acid-Shiff) en cortes de tejido incluido en parafina, mostró una membrana basal continua con engrosamientos focales, rodeando los grupos de células neoplásicas. El estroma peritumoral era escaso con distribución uniforme. La inmunofluorescencia fue positiva para

colágeno IV y laminina en la membrana basal. Luego de 72 hs de tratamiento (E[[2]] o RU486) se observó extensa fragmentación de la basal y pérdida focal de la estructura (PAS), asociada a fenómenos de citostasis y apoptosis característicos de la regresión hormonal. La laminina mostró fragmentación y disminución en la intensidad de la basal, a igual que el colágeno tipo IV. Las alteraciones descritas sugieren que el aumento de actividad proteolítica podría tener un rol funcional en la regresión y plantea un papel para las proteasas en este fenómeno.

- 34. (849) EXPRESIÓN DE P21, P27, DE RECEPTORES DE ESTRÓGENO (RE) Y DE PROGESTERONA (RP) EN LA REGRESIÓN DE LAS METÁSTASIS DE UN CARCINOMA MAMARIO MURINO.** SOLDATI ROCIO, EFEYAN Alejo, MEISS Roberto, MOLINOLO Alfredo, VANZULLI Silvia.

Academia Nacional de Medicina. Instituto de Biología y Medicina Experimental

El carcinoma mamario murino progestágeno-independiente (RE+, RP+) C7-2-HI origina metástasis axilares (MG) y pulmonares (MP). Tanto el tumor primario como las metástasis regresionan con estradiol (E[[2]], pellet de 5 mg.). El fenómeno está mediado por citostasis y apoptosis. En el tumor primario, la regresión se acompaña por aumento de expresión de p21 y p27. El objetivo del trabajo fue estudiar la expresión de estas proteínas en las MG y MP y evaluar la expresión de RE y RP durante el tratamiento. Hembras BALB/c portadoras del tumor C7-2-HI y de MG y MP recibieron E[[2]] (n=24) o no se trataron (n = 9). Se sacrificaron animales y se reseccionaron las MG y MP entre las 24 y 96 hs y a los 7, 15 y 25 días. Se evaluó por inmunohistoquímica la expresión de p21, p27, RE y RP en cortes de tejido incluido en parafina. Se contaron los núcleos positivos en 10 campos de 100x. p21 y p27 aumentaron significativamente en las MG y MP ($p < 0.001$) de los animales tratados con E[[2]]. RE y RP disminuyeron significativamente en las MG ($p < 0.001$) a igual que en el tumor primario; en las MP no se modificaron los niveles de RE y fueron variables los de RP. El aumento de p21 y p27 inducido por E[[2]] durante la regresión de las MG y MP podría mediar el efecto antiproliferativo observado. La regulación negativa de RE en el tumor primario y MG es consistente con una acción mediada por receptor.

- 35. (1034) EFECTOS BIOLÓGICOS DE TGF- β EN UN MODELO MURINO DE CARCINOMA DE PULMÓN.** DAROQUI MARÍA, PURICELLI Lydia, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa.

Area Investigación, Instituto de Oncología "A.H. Roffo", Facultad de Medicina, UBA

Los TGF- β s constituyen una familia de citoquinas versátiles que regulan la proliferación celular y han sido asociadas con el comportamiento tumoral. Estudiamos la expresión y función biológica de TGF- β en la línea LP07 de carcinoma de pulmón murino, capaz de inducir síndromes paraneoplásicos como leucocitosis, hipercalcemia y caquexia. En estas células, no se detectó la expresión de TGF- β 1, - β 2 y - β 3 mediante Western blot. Asimismo, mediante un bioensayo sobre las células reporter Mv1Lu, tampoco se detectó actividad de TGF- β secretada por las células LP07. Este comportamiento difiere del tumor parental P07, el cual produce las tres isoformas de TGF- β , biológicamente activas. Si bien la línea celular LP07 no produce ni secreta TGF- β , estas células fueron capaces de responder a TGF- β exógeno. Se determinó que TGF- β inhibió la proliferación in vitro de las células LP07 en forma dosis-dependiente ($48 \pm 5\%$ y $55 \pm 15\%$, con 0,4 y 4 ng/ml TGF- β 1, respectivamente), indicando además la presencia de receptores funcionales para TGF- β . Por otra parte, estudiamos el efecto de TGF- β sobre la secreción de uPA, una de las proteasas más importantes asociadas a progresión tumoral. Mediante caseinólisis radial se determinó que TGF- β inhibe significativamente la actividad de uPA secretada por las células LP07 (10,10 \pm 2,8 UI/mg prot. cel. en el control vs 4,81 \pm 1,0 con 4 ng/ml TGF- β 1). Estos resultados sugieren que TGF- β podría inhibir la progresión tumoral en este modelo de carcinoma de pulmón.

ENDOCRINOLOGÍA II

36. (422) ROL DE GP130 EN LA VASCULARIZACIÓN Y REGULACIÓN DE LOS TUMORES HIPOFISARIOS. GRACIARENA MARIANA, PEREZ CASTRO Carolina, CARBIA NAGASHIMA Alberto, GIACOMINI Damiana, PAEZ-PEREDA Marcelo, RENNER Ulrich, STALLA Günter K., ARZT Eduardo.

LFBM, FCEN, UBA, Argentina. Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany

Las citoquinas gp130 regulan la función y crecimiento hipofisario. Hemos reportado que clones estables de células tumorales lactosomatotrofas GH3 de expresión disminuida de gp130 (gp130 antisentido, gp130-AS) no responden a citoquinas gp130 pero sí a estímulos independientes, en ensayos de proliferación y secreción hormonal. Los clones gp130-AS poseen bloqueado el desarrollo de tumores in vivo en ratones nude. Basados en estos resultados analizamos la vascularización de estos tumores. Encontramos que la densidad de vasos en tumores de células GH3 gp130-AS (inmunohistoquímica del marcador celular CD31) fue significativamente menor que en los tumores derivados de GH3 gp130-sentido y GH3 control (12.9 ± 4.5 vasos/área vs. 43.1 ± 6.4 vs. 37.1 ± 5.4 vasos/área, $p < 0.001$, respectivamente). Generamos clones estables gp130 en otro modelo de células lactosomatotrofas, MtT/S que tienen niveles de gp130 (Western blot) aumentados (gp130-S) y disminuidos (gp130-AS). Ambos tipos de clones gp130-AS (MtT/S y GH3) poseen bloqueada la señalización de gp130: actividad transcripcional STAT-3 y niveles de mRNA de SOCS-3, frente a IL-6 y CNTF. Las MtT/S, a diferencia de las GH3, necesitan la presencia de otra línea celular de sostén foliculoestrellada que produce IL-6 para generar tumores en ratones nude. Demostramos un rol clave de gp130 en la tumorigénesis hipofisaria, y estudios comparativos entre líneas celulares estables gp130 MtT/S y GH3 permiten comprender el rol patogénico de gp130.

37. (452) EFECTO DE LA ANANDAMIDA (AEA) SOBRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE PRL EN RATAS HEMBRAS. SCORTICATI CAMILA, MOHN Claudia, VISSIO Paula, DE LAURENTIIS Andrea, FERNÁNDEZ SOLARI Javier, LENZ Ivonne, SEILICOVICH² Adriana, MCCANN³ Samuel, RETTORI Valeria

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos. (CEFyBOCONICET) ²CIR, Facultad de Medicina (UBA), ³Neuroendocrinology Pennington Biomed Res. Ctr, Baton Rouge, LA.

Demostramos que la inyección intracerebroventricular (icv) de anandamida (AEA), ligando endógeno de receptores canabinoides tipo 1 (CB1), disminuye los niveles plasmáticos de PRL en ratas macho. Además aumenta la actividad dopaminérgica y el contenido de DA en hipotálamo medio basal (HMB). El objetivo fue determinar la acción de AEA sobre los niveles plasmáticos de PRL en ratas ovariectomizadas (OVX) y tratadas con estradiol (10 µg/rata sc, OVX-E). Ratas Sprague Dawley canuladas icv y vena yugular, divididas en 4 grupos (n=8) inyectadas icv: Control(C) vehículo; AEA: 20ng/2µl; AM251 (antagonista CB1): 200 ng/2µl y AM251+AEA. Se tomó sangre cada 30min durante 150min determinándose PRL por RIA. Contenido de DA y DOPAC en HMB por HPLC. La inmunohistoquímica de doble marcación para CB1 y tirosina hidroxilasa en HMB mostró colocalización parcial. * $p < 0.05$ vs C.

	OVX			
	Control	AEA	AEA+AM251	AM251
PRL	604±146	612±137	493±98.5	1147±124*
DOPAC/DA	0.56±0.15	0.50±0.02*		
	OVX-E			
	Control	AEA	AEA+AM251	AM251
PRL	1396±162	2501±250*	1570±549	720±241*
DOPAC/DA	0.39±0.06	0.26±0.02*		

A diferencia de lo observado en OVX y machos la AEA aumenta los niveles PRL en OVX-E indicando dependencia del estado estrogénico. La AEA, vía CB1, participaría en la modulación de la actividad dopaminérgica ejercida por estrógenos.

38. (471) VALOR DE LA DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE CORTISOL Y ALDOSTERONA EN SALIVA POST ESTÍMULO CON ACTH PARA EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE INSUFICIENCIA ADRENAL. CARDOSO ESTELA, OFNER Luis, PERSI Gabriel, ARREGGER Alejandro, GUERRA Danisa, CONTRERAS Liliana.

Laboratorio de Investigación Endocrinológica, Instituto de Investigaciones Médicas A.Lanari

Hemos descrito en individuos sanos la respuesta de cortisol (SAF) y aldosterona (SAL) en saliva luego del estímulo con ACTH sintética (250µg,im). En el presente trabajo utilizamos este test para evaluar 17 pacientes (P), 9 con insuficiencia renal crónica (IRC) que consultaron por hipotensión arterial con ortostatismo, astenia y anorexia. Los controles fueron 22 individuos sanos (N). La saliva se recolectó en condiciones basales y a los 30, 60, 90 y 120 minutos post ACTH. Los esteroides se determinaron mediante RIA, expresándose SAF en nmol/L y SAL en pmol/L. Se determinó actividad de renina plasmática en reposo (ARP; ng/ml/h) por RIA. En N la respuesta mínima normal de SAF fue 40,0 y de SAL 100,0; rango ARP 0,5-2,2. En P con función renal normal identificamos post ACTH: 6 P con hiporespuesta de SAF (<16,0) y de SAL (<70,0) (A) y 2 P con respuesta subnormal de SAF (<34,0) y respuesta normal de SAL (>110,0) (B). En IRC identificamos: 1 P con reserva adrenal conservada (SAF >50,0 y SAL >100,0) (C); 1 P con hiporespuesta de SAF (<17,0) e indemnidad de SAL (>110,0) (D); 3 P con respuesta de SAF conservada (>42,0) e hiporespuesta de SAL (<34,0) y ARP < 0,5 en todos los casos (E); 4 P con SAF >40,0, SAL >120,0 y ARP significativamente elevada (rango) 4,4-37,0 (F). La determinación simultánea de SAF y SAL en respuesta a ACTH permitió identificar pacientes con: insuficiencia adrenal primaria (A), insuficiencia adrenal secundaria (B y D), hipoadosteronismo selectivo (E) y pseudohipoadosteronismo (F).

39. (483) EFECTO DE LA GLICACIÓN DE UNA MATRIZ EXTRACELULAR SOBRE LA ADHESIÓN DE OSTEOBLASTOS: PARTICIPACIÓN DE INTEGRINAS. MCCARTHY ANTONIO, UEMURA Toshimasa, ETCHERRY Susana, CORTIZO Ana.

Cátedra de Bioquímica Patológica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata

La capacidad de unión de osteoblastos a una matriz ósea modula el crecimiento, diferenciación y mineralización celular. Se examinó la adhesión de preosteoblastos MC3T3E1 de ratón y de células UMR106 de osteosarcoma de rata, a una matriz de colágeno tipo I control (Col) o modificada por productos de glicación avanzada (AGE-Col). Se investigó el rol de diferentes integrinas en la adhesión, coincubando las células con un péptido-b (secuencia 113-125 de la subunidad b de integrinas) o con otros dos péptidos, RGD y DGEA, secuencias de reconocimiento para las integrinas a1,5b1 y a2b1. AGE-Col inhibió la adhesión de los osteoblastos UMR106 a la matriz (40%, $p < 0.001$), pero no la adhesión de las células MC3T3E1. El péptido-b inhibió la adhesión a ambas matrices tanto de las células UMR106 (42% a Col, $p < 0.001$; y 25% a AGE-Col, $p < 0.01$), como de los osteoblastos MC3T3E1 (34% y 35%, $p < 0.002$). Los péptidos sintéticos RGD y DGEA inhibieron la unión de las células UMR106 a Col (30% y 20%, $p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente), pero no a AGE-Col. Ambos péptidos bloquearon la adhesión de las células MC3T3E1 a Col y AGE-Col (20-30% inhibición para RGD, $p < 0.001$; y 30-35% inhibición para DGEA, $p < 0.001$). Así, las subunidades a como b de integrinas participarían en la adhesión de los osteoblastos a una matriz de colágeno, probablemente por medio de las integrinas a1,5b1 y a2b1. La modificación del colágeno por AGE afecta la unión, mediada por estas integrinas, de los osteoblastos UMR106 a dicha matriz.

40. (535) LA TRANSACTIVACIÓN DEL GEN DE LA HORMONA ANTI-MULLERIANA EN RESPUESTA A LA FSH ES MEDIADA POR

PKA Y LOS FACTORES NFKB Y AP2. LASALA CELINA, NICAUD Juliette, BEDECARRÁS Patricia, PICARD Jean-Yves, REY Rodolfo.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas, Hospital de Niños R. Gutiérrez, Unité INSERM 493, Ecole Normale Supérieure, Montrouge, Francia.

Las células de Sertoli infantiles producen altos niveles de hormona anti-Mülleriana (AMH) y responden a la FSH con un aumento en su expresión mediado por AMPc. La AMH es entonces un excelente marcador de la respuesta sertoliana a la FSH. Como el promotor de la AMH no posee un elemento de respuesta al AMPc (CRE) clásico, el mecanismo molecular involucrado en la transactivación del gen de la AMH en respuesta a la FSH necesita ser elucidado, lo cual ha sido el objeto del presente trabajo. Usamos la línea estable de células de Sertoli inmaduras SMAT1 para transfectar construcciones promotor AMH-luciferasa. Las células fueron incubadas con dbAMPc 1 mM solo o coinubadas con inhibidores de PKA (H89), PI3K (LY294002), p38-MAPK (SB20358) o ERK (PD98059). El dbAMPc aumentó la actividad transcripcional, y sólo el H89 fue capaz de bloquear la respuesta (Actividad transcripcional, en unidades relativas considerando basal = 1: dbAMPc: 2,1 ± 0,1; dbAMPc+H89: 0,9 ± 0,7; dbAMPc+LY: 1,9 ± 1,1; dbAMPc+SB: 3,0 ± 0,3; dbAMPc+PD: 2,0 ± 0,1). En la región del promotor involucrada en la respuesta al AMPc, inactivamos un sitio NFKB y un sitio AP2. Ambas mutaciones produjeron una disminución significativa de la respuesta (Activ. transc., en un. rel.: promotor normal: 2,4 ± 0,5; sitio NFKB mutado: 1,5 ± 0,2; sitio AP2 mutado: 1,6 ± 0,3). En conclusión, la FSH activa la transcripción del gen de la AMH vía PKA, pero utilizando los factores NFKB y AP2, en lugar de factores que se unen a CRE.

- 41. (608) EXPRESIÓN DE GALECTINA-3 EN OSTEOBLASTOS EN CULTIVO: REGULACIÓN POR PRODUCTOS DE GLICACIÓN AVANZADA.** MERCER NATALIA, VASTA Gerardo, AHMED Hafiz, LETTIERI Gabriela, ETCHEVERRY Susana, CORTIZO Ana.

Cátedra de Bioquímica Patológica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Center of Marine Biotechnology, University of Maryland, Baltimore, Maryland, USA

La galectina-3, un miembro de la familia de las lectinas que une b-galactósidos, ha sido reconocida como un receptor de membrana específico para productos de glicación avanzada (AGE) o AGE-R3. Previamente demostramos que los AGE regulan el crecimiento y diferenciación de osteoblastos. En este trabajo se investigó la presencia de galectina-3 en preosteoblastos MC3T3E1 de ratón y en células UMR106 de un osteosarcoma de rata, así como su regulación por AGE-albúmina. Usando un anticuerpo policlonal contra galectina-3 se detectó por Western blot una banda de 30 kDa en ambas líneas celulares, siendo su expresión mucho mayor en la línea no tumoral en comparación con la línea tumoral. Esta lectina se detectó en diversos compartimentos, como el citosol, membranas y también en el medio condicionado de los osteoblastos en cultivo. La expresión de esta proteína fue incrementada en forma dependiente de la dosis por AGE-albúmina. En las células del osteosarcoma UMR106, AGE-albúmina (100 y 200 µg/ml) incrementó la galectina-3 en 135 y 170% del basal (p<0.05) mientras que en las células no tumorales MC3T3E1 el incremento fue de 122 y 124% del basal (p<0.05). Altas dosis de AGE-albúmina (500 µg/ml) no indujeron cambios significativos en la expresión de galectina-3. En conclusión, la galectina-3 se expresa mayormente en la línea de osteoblastos no tumoral en comparación con la del osteosarcoma y es regulada positivamente por la presencia de proteínas modificadas por AGE en el medio de cultivo.

- 42. (674) EFECTO DE LEPTINA SOBRE LH, LIBERACIÓN HIPOTALÁMICA DE GN-RH Y SISTEMA DE AMINOÁCIDOS NEUROTRANSMISORES DURANTE EL DESARROLLO PUBE-
RAL EN RATAS HEMBRA.** REYNOSO ROXANA MARÍA, SZWARCFARB Berta, CARBONE Silvia, RONDINA Dora,

CERRUTI Silvana, PONZO Osvaldo, SCACCHI Pablo, MOGUILLEVSKY Jaime.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

El sistema de aminoácidos hipotalámicos juega un rol importante en la regulación de la neurona Gn-RH y la secreción de gonadotropinas. Leptina, estaría ligada a procesos neuroendocrinos involucrados en la reproducción y podría actuar como señal periférica del desarrollo puberal. Se estudió el efecto de leptina (L) sobre la secreción plasmática de LH (ng/ml, método RIA) y la liberación hipotalámica "in vitro" de Gn-RH (pg/ml, método RIA) y aminoácidos: ácido gamma aminobutírico (GABA), aspártico (ASP) y glutámico (GLU) (pmoles/100 µl de medio, método HPLC) en ratas hembra pre (15 días) y peripúberes (30 días) inyectadas con salina (C) o L (30 µg/kg i.p. 90 min. antes del sacrificio). Se observó que en animales pre y peripúberes L aumentó significativamente (p< 0.01) la secreción de ASP (15 días: 24.2 ± 1.4 vs 59.0 ± 0.5); 30 días: 12.04 ± 1.0 vs 25.02 ± 0.86) y la liberación de Gn-RH (15 días: 2.1 ± 0.2 vs 3.78 ± 0.3; 30 días: 3.3 ± 0.3 vs 7.6 ± 0.7). En ratas prepúberes, aumentó (p< 0.01) GABA (203 ± 17 vs 263 ± 16) y no hubo variaciones significativas de ASP y GLU. En cambio en peripúberes disminuyó (p < 0.01) GABA (263 ± 18 vs 129 ± 14) y aumentó (p< 0.01) ASP (497 ± 39 vs 720 ± 42) y no se modificó G. Estos resultados podrían sugerir que el sistema de aminoácidos, que controlan la secreción de Gn-RH, podrían estar involucrados en el efecto estimulador de leptina sobre el eje gonadal durante la maduración sexual en ratas hembra.

- 43. (686) CAMBIOS EN LA POBLACIÓN SOMATOTROPA ADENOHIPOFISARIA POR EFECTOS DE LA DENERVACIÓN HIPOTA-LÁMICA Y LA DIETA HIPERLIPÍDICA.** CAMIHORT GISELA, FERESE Celia, LUNA Georgina, BRACAMONTE María, CÓNSOLE Gloria.

Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata. Cátedra de Histología y Embriología B.

El tratamiento neonatal con glutamato monosódico (MSG) induce daño neuronal severo en el núcleo arcuato hipotalámico, con alteraciones neuroendocrinas y obesidad. El presente estudio investiga los cambios inmunohistoquímicos morfométricos en la población somatotropa adenohipofisaria. Ratas hembras fueron sometidas a denervación hipotalámica neonatal (MSG) y dieta grasa (DG) durante 120 días. Las hipófisis se procesaron para microscopía de luz y se inmunomarcó mediante un sistema anti-GH-EnVision (Dako)-DAB. Se registraron los parámetros estereológicos por medio de un analizador de imágenes (Optimas). Se halló aumento significativo (p<0.001) en la densidad de volumen (DV) del grupo con DG sin MSG, respecto a dieta normal (DN), acompañado de un incremento significativo (p<0.001) del tamaño celular (TC).

	Dieta normal	Dieta normal	Dieta hiperlipídica	Dieta hiperlipídica
GH	sin MSG	con MSG	sin MSG	con MSG
DV (x10 ⁻²)	11.7 ± 1.1	11.2 ± 0.9	20.1 ± 1.9*	11.7 ± 0.9
DV (x10 ⁻⁴)	40.4 ± 1.8	39.3 ± 1.9	38.3 ± 1.6	40.6 ± 2.4
TC (µm ²)	28.8 ± 2.0	27.8 ± 1.9	50.5 ± 4.2*	29.1 ± 2.2

Concluyendo, el tratamiento con DG ocasiona hipertrofia de las células somatotropas que determina aumento de DV.

- 44. (766) ACTIVIDAD DE LA 11β-HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA (HSD) ADRENAL EN RESPUESTA AL ESTRÉS.** ZALLOCCI MARISA, MATKOVIC Laura, DAMASCO María Cristina.

Programa de Regulación Hormonal y Metabólica CONICET PRHOM-CONICET. Depto de Química Biológica. FCEN.UBA.

El estrés aumenta la actividad Hipotalámico-Hipofiso-Adrenal. La concentración de glucocorticoides intracelulares está regulada por la HSD1 que in vivo reduce el glucocorticoide inactivo a activo. La HSD2 cataliza el camino inverso. En corteza adrenal se encuentran ambas isoformas que en situaciones de estrés podrían regu-

lar los niveles plasmáticos de glucocorticoides y aumentar la formación de epinefrina en médula adrenal. Estudiamos si el estrés regula la actividad de ambas isoformas de la HSD adrenal. Medimos por RIA niveles de corticosterona (B) circulantes. Incubamos microsomas adrenales: grupos de animales: Sin Estrés (SE), Estrés por Sobrecarga Simulada (ESS) y Estrés por sobrecarga con HCl (EHCl), utilizando BH3 y NAD o NADP. Niveles de B circulantes: SE 29+7, ESS 231+26, EHCl 353+38 ng/ml plasma. Actividad HSD1: SE 0,19+0,02; ESS 0,25+0,01; EHCl 0,41+0,01 pmoles A/ (mg proteínaxminuto). Actividad HSD2: Sin diferencias significativas. El estrés aumenta tanto la actividad de HSD1, incrementando la oferta de glucocorticoides activos, como los glucocorticoides circulantes. Corteza y médula adrenal están relacionadas: los glucocorticoides son importantes en el mantenimiento de las células cromafines y su producción de epinefrina. El aumento de la actividad de la HSD1 podría tener importancia bifocal: aumentar los glucocorticoides circulantes e incrementar la enzima feniletanolamina N-metiltransferasa, encargada de sintetizar epinefrina a partir de norepinefrina.

45. (793) **CORRELACION DE LOS NIVELES SERICOS DE ESTEROIDES SEXUALES (ES) E IGF-I CON LA CAPACIDAD PROLIFERATIVA (CP) DE LIQUIDOS QUISTICOS MAMARIOS (LQ) EN CELULAS MCF-7 EN CULTIVO.** ENRIORI PABLO, VAZQUEZ Stella, CHIAUZZI Violeta, FISCHER Carlos, GORI Jorge, ETKIN Alberto, CHARREAU Eduardo, CALANDRA Ricardo, LUTHY Isabel.

IByME, Hospital Alemán, Hospital Durand, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP

La Enfermedad Macroquística MaMaría es la patología benigna más frecuente en la perimenopausia. Objetivo: evaluar la influencia de los ES e IGF-I séricos de las pacientes portadoras de quistes sobre la CP de los LQ en células MCF-7. Métodos: se estudió la CP por incorporación de timidina tritiada incubando las células con 10 ul de LQ durante 24 hs. Los ES y EGF fueron determinados por RIA mientras que IGF-I e IGF-I/IGFBP-3 (IGFbio), por IRMA. Resultados: Los niveles séricos de estrógenos (estradiol, estrona, estrona-sulfato, 5-androsteno-3beta-17beta-diol (Adiol), Adiol-sulfato) no correlacionaron con la CP de los LQ. En cambio, correlacionaron con la CP de los LQ los niveles séricos de progesterona en la fase lútea (Pg, $r = 0,46$; $p < 0,008$), de IGF-I ($r = 0,5$, $p < 0,004$) y de IGFbio ($r = 0,56$, $p < 0,008$). A su vez, los niveles séricos de IGF-I e IGFbio correlacionaron positivamente con EGF intraquístico ($r = 0,59$; $p < 0,004$) y negativamente con TGF-beta 2 ($r = -0,59$, $p < 0,001$). Por otro lado, IGF-I intraquístico es detectable solamente en el 25% de los LQ y no correlacionó con IGF-I sérico. Además, no se observó correlación de Pg con EGF, TGF-beta 2 ni con Pg intraquística. La correlación hallada entre la concentración sérica de IGF-I e IGFbio y la CP de los LQ, indicaría un efecto mediado por el contenido intraquístico de EGF y TGF-beta 2. En cambio, Pg ejercería su acción por mecanismos indirectos diferentes de estos factores de crecimiento.

46. (798) **REGULACION DIFERENCIAL DE LA SECRECION DE PROLACTINA POR HORMONA TIROIDEA EN CULTIVO DE CELULAS HIPOFISIARIAS NORMALES Y TUMORALES.** DE PAUL ANA, BONATERRA Mónica, PELLIZAS Claudia, COLEONI Aldo, TORRES Alicia.

Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Medicina y Depto de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas. U.N.C.

Introducción y objetivo: La población de células lactotropas exhibe variantes morfológicas y funcionales. Se propone evaluar la acción de la hormona tiroidea (T3) sobre la síntesis y secreción de prolactina (PRL) y la expresión del receptor de T3 (TRa1) en cultivos hipofisarios normales y tumorales. Material y métodos: Adenohipofisis de ratas machos y hembras y células tumorales GH3B6 controles y tratadas con T3 (10-5M y 10-7M) se incubaron durante 36 horas. Se realizaron estudios ultraestructurales y cuantitativos de PRL secretada por RIA; contenido intracelular por Western blot y el mRNA mediante Northern blot. El TRa1 se detectó mediante la técnica PAP-DAB. Resultados: En ratas hem-

bras, T3 inhibió la liberación de PRL sólo con la mayor dosis ($p < 0,05$; ANOVA-Tukey). Este efecto se observó en ratas macho con la dosis menor de T3 (50% vs control). En ambos casos se cuantificó un aumento significativo de PRL intracelular. En células tumorales la secreción de PRL no se modificó frente a ambas dosis de T3. El ARNm de PRL se mantuvo sin cambios con respecto al control. Se detectó TRa1 en núcleo, aunque la mayor inmunomarcación fue citoplasmática. La hormona tiroidea indujo cambios en la secreción de PRL sin modificaciones en la transcripción del gen. Las células lactotropas normales y tumorales evidenciaron una sensibilidad diferencial frente a T3. La expresión citoplasmática de TRa1 además de nuclear, destacaría la existencia de diferentes niveles de control ejercidos por T3.

47. (817) **EFFECTO DE LIGANDOS DEL RECEPTOR DE ARIL HIDRO-CARBURIS (AHR) SOBRE LA PROLIFERACION DE CELULAS DE LA GRANULOSA (GC) DE RATA.** BUSSMANN URSULA, BUSSMANN Leonardo, BARAÑO Lino

Instituto de Biología y Medicina Experimental.

Se ha descrito la presencia del AhR en GC de rata y demostrado que su delección produce infertilidad en otras especies. Paradójicamente, ligandos de este receptor como las dioxinas producen también alteraciones reproductivas. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de distintos ligandos del AhR sobre la proliferación de GC de rata. Se estudió este proceso en cultivos de dichas células estimuladas con FSH (2 ng/ml) y E[[2]] (100 ng/ml) y luego se midió la incorporación de timidina. El ligando β -Naftoflavona (10 μ M) mostró un efecto comitogénico con FSH y E[[2]]: 2267 ± 207 cpm/well vs. 999 ± 137 cpm/well ($p < 0,01$). Esto fue corroborado mediante Western Blot contra PCNA. Se determinó mediante RIA que esta flavona no afecta los niveles de E[[2]] producidos. El antagonista alfa-Naftoflavona (10 μ M) inhibió el efecto mitogénico de dichas hormonas: 1589 ± 109 cpm/well vs. 2438 ± 74 cpm/well ($p < 0,001$). Dado que una acción descrita del AhR es inducir a la hidroxilasa CYP1A1, que convierte E[[2]] en catecolestrógenos, se ensayó el efecto de estos últimos (1 μ M). Tanto el 2HOE como el 2ME inhibieron la proliferación en presencia de FSH: 2536 ± 72 cpm/well (2HOE) y 1618 ± 159 cpm/well (2ME) comparado con 10589 ± 134 cpm/well en el grupo E[[2]] (1 μ M)+FSH ($p < 0,001$ en ambos casos). Estos resultados indican que distintos ligandos del AhR modulan la proliferación de estas células, siendo en el caso de β -Naftoflavona un efecto independiente de la posible inducción de las enzimas del grupo CYP.

48. (818) **LOCALIZACIÓN RELATIVA DE LOS SITIOS DE UNIÓN DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO HUMANA (HGH 22K) Y LA VARIANTE NATURAL (HGH 20K) A SUS RECEPTORES.** LONGHI SILVIA A., CORTÉS M, RETEGUI L.

Facultad de Farmacia y Bioquímica IQUIFIB (UBA-CONICET).

En la hGH 20K está ausente la secuencia 32-46 de la hGH 22K debido al procesamiento alternativo del ARN mensajero de la hGH 22K. Sin embargo, ambas isoformas actúan a través de los receptores somatotrópicos (GHR) y lactotrópicos (PRLR). Puesto que se ha demostrado que la hGH 20K presenta menor potencia que la hGH 22K en ciertas acciones biológicas, decidimos estudiar si los sitios de los receptores a los que se unen las dos isoformas coinciden total o parcialmente. Para estimar la proximidad de los sitios de unión utilizamos como reactivo biológico un anticuerpo monoclonal (MAb R7B4), que reconoce un epítopo del GHR y del PRLR parcialmente superpuesto con la zona de unión de la hGH 22K. Como fuente de receptores se emplearon membranas que expresan el GHR (placenta e hígado humano) o el PRLR (células Nb2 e hígado de rata). Se observó que el MAb R7B4 inhibía la unión de la 125I-hGH 22K a microsomas de placenta humana y de hígado de rata, pero no afectaba la de la 125I-hGH 20K. Por otro lado, el MAb disminuyó la unión de ambas hormonas a los receptores presentes en las células Nb2 e hígado humano. Los resultados sugieren que el sitio al que se une la hGH 20K coincide sólo en parte con el correspondiente a la hGH 22K en placenta humana e hígado de rata, mientras que en hígado humano y en células Nb2 los sitios de unión de estas hormonas estarían totalmente superpues-

tos. Los datos descriptos podrían explicar las diferencias en algunas de las acciones biológicas de estas hormonas.

- 49. (894) LA INTERACCIÓN NEUROENDOCRINA MODIFICA LA LIBERACIÓN DE ANDROSTENODIONA EN EL CICLO ESTRAL.** SOSA ZULEMA, DELGADO Silvia, CASAIS Marilina, RASTRILLA Ana, AGUADO Luis.

Laboratorio de Biología de la Reproducción-Universidad Nacional de San Luis

Los andrógenos aromatizables además de ser los precursores en la síntesis de estradiol, tienen efecto sobre el cuerpo lúteo y según sus niveles determinan la dominancia o atresia folicular. Objetivo: Estudiar durante el ciclo estral la interacción neuroendocrina en cultivo de ovario a través de la liberación de Androstenediona (A2), en presencia de Isoproterenol (Iso 10^{-6} M), con y sin la adición de Hormona Luteinizante (LH, 50 ng/ml) en el medio. La A2 liberada se determinó por RIA a los 15, 30, 60 y 120 min de incubación. Estadística: se aplicó test de Student con una significancia de $p < 0.05$. Resultados A2 (pg/mg ovario \pm SEM) valores control en PE: 30: 39 ± 3 ; 60: 32 ± 3 ; 120: 36.1 ± 4 ; 180: 37 ± 1 . E 30: 9.3 ± 0.3 ; 60: 8.28 ± 0.5 ; 120: 9.8 ± 0.2 y 180: 11 ± 0.2 ; D1: 30: 5.3 ± 0.3 ; 60: 4.3 ± 0.5 ; 120: 4.8 ± 0.29 y 180: 3.4 ± 0.2 ; D2: 30: 2.3 ± 0.3 ; 60: 4.3 ± 0.5 ; 120: 6.4 ± 0.2 y 180: 8 ± 0.2 . En PE, D1 y D2 tanto Iso como LH aumentaron la A2 ($p < 0.001$), mientras Iso-LH no afectaron la liberación. En E, tanto Iso como LH no provocaron modificaciones mientras la acción conjunta Iso-LH estimuló la liberación de A2 ($p < 0.001$). Conclusiones: los resultados indicarían cooperatividad en la interacción entre los receptores adrenérgicos y de LH presentes en ovario. Además, la potenciación observada en E podría demostrar la desorganización y el proceso de diferenciación existente en esta etapa de formación de los cuerpos lúteos.

GASTROENTEROLOGÍA II

- 50. (541) NEURONAS DEL PLEXO DE AUERBACH INTESTINAL EN UN MODELO DE RATAS INFECTADAS CON TRYPANOSOMA CRUZI (TC).** HISANO NORIYUKI, RODRÍGUEZ Guillermo, BERRA Héctor, REVELLI Silvia.

Cátedra de Histología y Embriología, Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas (UNR), Consejo de Investigaciones UNR.

En ratas infectadas con Tc estudiamos el plexo de Auerbach intestinal que se colorea con NADH (neuronas) y ZIO (prolongaciones), además del estudio en cortes histológicos semiseriados. Ratas machos de la línea "I" de 21 días :1.- Controles (C), 2.- Infeccionadas s.c. con una dosis única de 10(6) de Tc (I), 3.- Reinfectedas con Tc cada quince días (R); fueron sacrificadas a los 6 meses post-infección inicial. En la autopsia se disecó el intestino delgado y colon, se lavaron con PBS, midieron y pesaron. Segmentos del colon proximal (CP) y colon distal (CD) fueron fijados en Carnoy, procesados histológicamente y coloreados con Giemsa. Segmentos del intestino delgado, CP y CD procesados con la técnica histoquímica del NADH y ZIO según Komuro. Resultados: Neuronas/mm²(2), n=4 (media \pm es), C: CP 41.44 ± 12.59 , CD 31.95 ± 3.57 , I: CP 39.51 ± 6.13 , CD 25.52 ± 3.07 . R: CP 49.07 ± 15.31 , CD 34.75 ± 5.13 . Los estudios con NADH mostraron en C imágenes plexuales típicas, en I y en R se observaron zonas de imágenes plexuales borradas y/o desaparecidas dejando imágenes neuronales aisladas. Sin embargo, con ZIO se pueden observar en todos los animales las estructuras fibrilares del plexo. Si bien en los cortes histológicos y la técnica de ZIO no se observaron diferencias significativas entre grupos; sin embargo, la técnica del NADH evidenció disminución neuronal del plexo de Auerbach en los animales infectados con Tc.

- 51. (542) PLEXO DE AUERBACH INTESTINAL EN RATAS β SOMETIDAS A DOS TIPOS DE REGÍMENES ALIMENTICIOS.** HISANO NORIYUKI, FELTRE Ana Laura.

Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. UNR

A una línea de ratas (β , con sobrepeso, hipertrigliceridémicas, que desarrollan diabetes tardía; correspondiente a diabetes tipo II humano), se los sometió a dos regímenes alimenticios distintos. Nuestro objetivo fue estudiar si la restricción dietaria produciría modificaciones en el plexo de Auerbach. A ratas machos de la línea β se las alimentó con dieta balanceada comercial desde el destete hasta los 8 meses de edad. A un grupo se le suministró alimentación ad libitum (dieta no restrictiva -nr-); a otro grupo se los alimentó con la misma dieta reducida en un 30 % (dieta restringida -r-). En la autopsia, se disecó el intestino delgado y colon a 6 animales de cada grupo, se los lavó con PBS, se midió, se pesó y luego se los procesó mediante la técnica histoquímica del NADH (según Komuro). Los resultados se resumen: 1.- con dieta restrictiva: las imágenes plexuales del intestino delgado, colon proximal y colon distal conservan un patrón plexual normal. 2.- con dieta no restrictiva: se observa una desaparición importante de imágenes plexuales más notables en el intestino delgado y en el colon distal y se observan alteraciones menores de las imágenes plexuales en el colon proximal. El trastorno metabólico (hipertrigliceridemia, sobrepeso, diabetes tardía) en esta línea favorecería la aparición de alteraciones plexuales, en cambio, la restricción dietaria protegería de las modificaciones plexuales observadas.

- 52. (582) ¿SE RELACIONA EL EFECTO PROTECTOR DE LA COLESTASIS CON LA EXPRESIÓN DE LA P-GLICOPROTEÍNA HEPÁTICA?** GHANEM CAROLINA Inés, GÓMEZ Paula Cecilia, ARANA María Cecilia, BENGOCHEA Laura Alicia.

Cátedra Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA

Introducción: La P-glicoproteína (P-gp) está localizada en el canalículo biliar del hepatocito y su función principal es la detoxificación de sustancias (drogas, fosfolípidos, etc.) hacia la bilis. Se ha descrito que la colestasis tiene un efecto protector hepático frente a la intoxicación aguda por paracetamol. Asimismo también se ha reportado la inducción de la P-gp en ratas con colestasis quirúrgica. El objetivo de esta presentación es explorar si el aumento de la P-gp intrahepática es responsable de dicho efecto protector. Materiales y métodos: Se trabajó con ratas wistar macho de 200-250 gr que se dividieron en cuatro grupos. LCB: Colestasis quirúrgica de 8 días de evolución. APAP: Intoxicación con paracetamol de 24 hs (1 gr/kg peso, intraperitoneal). LCB-APAP: colestasis quirúrgica de ocho días con inyección de APAP siete días después de la cirugía. CONTROL: ratas sham con inyección del vehículo. Se realizó la extracción de proteínas hepáticas y se determinó la expresión de P-gp utilizando la técnica de western blot con el anticuerpo monoclonal C219. Resultados: Se evidenció una disminución en la expresión de la P-gp en el grupo LCB-APAP cuando se comparó con el grupo LCB. La intoxicación aguda con paracetamol revierte el efecto inductor de la colestasis sobre la expresión de la P-gp.

- 53. (587) INFLUENCIA DE LA ESPECIE QUÍMICA DEL ALUMINIO EN EL EFECTO SOBRE EL TRANSPORTE INTESTINAL DE CALCIO IN VITRO.** ORIHUELA DANIEL, PERÍN Juan Carlos.

Fisiología Humana, Universidad Nacional del Litoral Departamento Química Orgánica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, U.N.L., Santa Fe

El aluminio ingerido puede interactuar con componentes dietarios en el lumen intestinal. Con el objetivo de analizar si la especiación química del aluminio (Al) influye en su efecto biológico, se midió el transporte de 45 -Ca (JCa) en segmentos evertidos de intestino delgado de pollo in vitro, en presencia de Al bajo diferentes formas químicas, inorgánicas (I): AlF₃, AlCl₃, Al(OH)₃, y orgánicas (O): Al-citrato (CAI), Al-maltol (MAI), Al-lactato (LAI), a [Al] nominal 2-200 μ M (pH 7,3). Los controles fueron incubados con los respectivos ligandos. Se cuantificó I_{max} (inhibición máxima) e IC₅₀ en gráficas JCa (% control) vs. log [Al]. Para caracterizar las especies químicas de Al se obtuvieron los espectros FT-IR de los compuestos liofilizados con y sin Ca (1 mM), y se simuló computacionalmente la especiación del Al. Todos los compuestos ensayados redujeron el JCa, mostrando curvas dosis-respuesta sigmoideas (downhill), excepto CAI que resultó lineal y Al(OH)₃ que

no tuvo tendencia definida. Los valores de I_{max} fueron similares (40%), pero hubo diferencias en IC_{50} (en μM): $AIC_{13}=99,8\pm 0,4$, $AIF_3=59,4\pm 0,3^*$, $MAI=94,2\pm 0,5$, $LAI=86,6\pm 0,6^*$; * $P<0,05$ vs. AIC_{13} . Las formas I y LAI mostraron marcados corrimientos de picos FT-IR en longitudes de onda 450 a 3500 $1/cm$, en presencia de Ca. Los resultados sugieren que in vitro el efecto del Al sobre el JCa sería dependiente de la forma química del metal, la cual condicionaría su biodisponibilidad y por lo tanto su mecanismo de acción biológica.

- 54. (589) PRESERVACIÓN HIPOTÉRMICA DE HEPATOCITOS AISLADOS DE RATA EN SOLUCIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE WISCONSIN (UW). TRANSPORTE DE ATP EN HIPOTERMIA.** MAMPRIN MARÍA Eugenia, ALMADA Luciana, SCANDIZZI Angel, RODRIGUEZ Joaquín.

Farmacología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario.

En trabajos anteriores se demostró que la incorporación de ATP 10mM a la sol. UW evita la pérdida de nucleótidos que se produce durante la preservación de hepatocitos (HC). El mayor contenido intracelular de ATP encontrado se correlacionó con una mejor viabilidad durante la reoxigenación. En este trabajo se estudió el mecanismo de transporte de ATP en HC sometidos a preservación hipotérmica. Los HC fueron mantenidos en UW (2.5 10^6 (6) cel/mL) a 0°C y se determinó a) la acumulación de $[^3H]$ -ATP (4.1mCi/mL) en presencia de 10mM ATP frío a diferentes tiempos (15 a 1200 seg), la que fue corregida por el contenido de ATP atrapado en el extracelular y por la fijación no específica. b) para estudiar la captación de $[^3H]$ -ATP en función de la conc. extracelular de ATP, los HC se incubaron 10 min con el agregado de 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 y 15.0 mM de ATP frío. Las muestras se centrifugaron y se determinó la actividad en pellets y sobrenadantes. Se encontró que la captación de ATP es un proceso rápido (180 seg) no saturable y con dependencia lineal de la concentración extracelular de ATP. La regresión lineal mostró una pendiente de 3.544 ± 0.971 nmolATP intracel. 10^6 (6) cél/ mM ATPextracel ($n=24$ $r=0.9981$). Los resultados indican que en condiciones de hipotermia en UW los HC son permeables al ATP extracelular y el mecanismo de entrada sería difusivo. Este fenómeno podría ser útil para proveer de sustratos energéticos a células que son sometidas a procesos de preservación-reoxigenación.

- 55. (607) ACCIONES DEL ALUMINIO IN VIVO SOBRE EL GLUTATION (GSH) INTESTINAL EN RATAS.** ORIHUELA Daniel, MEICHTRY Verónica.

Fisiología Humana, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral

El aluminio (Al) es un metal tóxico que se encuentra en medicamentos de uso oral consumidos por la población general. Se investigó el efecto del Al sobre un compuesto clave para la función intestinal como el GSH. Se trataron ratas Wistar adultas (machos) con 0 (C), 30, 60, 120 y 200 mg AIC_{13}/kg peso/día, por sobrecarga oral forzada durante 7 días. En homogenados de mucosa de intestino delgado se determinaron: GSH reducido y oxidado (GSSG), lipoperoxidación (LPO), actividades específicas de enzimas GSH-sintetasa (GS), GSSG-reductasa (GR), glutamyltranspeptidasa (gGT) y glutation-S-transferasa (GST). Para evaluar la función absorbiva se midió absorción de ^{45}Ca (Ca-ABS) en segmentos de duodeno-yeyuno ligados in situ. El Al produjo, comparado con C, una reducción de GSH total, desde 60 mg/kg ($1,82 \pm 0,27$ vs. $2,46 \pm 0,35$ $\mu mol/g$ tej.húm., $n = 5$, $P < 0,05$) y un incremento de la relación GSSG/GSH desde 120 mg/kg ($0,044$ vs. $0,028$, $P < 0,05$). GS y GR fueron disminuidas desde 120 mg/kg ($P < 0,05$ vs. C). GST fue ligeramente modificada por el Al. Por el contrario, gGT y LPO tendieron a aumentar con la dosis de Al. Se encontró una correlación positiva entre depleción porcentual de GSH intestinal y % reducción de Ca-ABS ($r = 0,923$, $P < 0,01$), ambas por efecto del Al. Estos resultados muestran que el Al en dosis elevadas altera el metabolismo del GSH en el intestino delgado de la rata, contribuyendo al deterioro de ciertas funciones absorbivas intestinales, como la absorción de calcio.

- 56. (640) EL NITROPRUSIATO DE SODIO (NP) FACILITA LA ENTRADA AL PARÉNQUIMA HEPÁTICO DE HEPATOCITOS TRASPLANTADOS EN BAZO DE RATAS.** SIGOT VALERIA, MEDIAVILLA María, FURNO Graciela, MARTÍNEZ Alejandra, RODRIGUEZ Joaquín, GUIBERT Edgardo.

Biología Molecular, Estadística, Morfología, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas.UNR

Los hepatocitos (H) trasplantados se integran, sobreviven y expresan sus genes normalmente en el parénquima hepático. Después de la inyección intraesplénica, las células trasplantadas se alojan en el endotelio sinusoidal y paulatinamente se incorporan al parénquima, proceso que dura hasta 20 hs. Nuestro objetivo fue analizar el efecto que ocasiona la administración conjunta del vasodilatador NP, durante el trasplante de H, sobre la entrada de estas células al hígado. Para ello, ratas Wistar fueron trasplantadas con H ($3-6 \times 10^7$ (7) cél.) marcadas con Carboxi-Fluoresceína Succinimidil Ester (10 μM) y se inyectaron con NP 100 μM (0,01mg/100 g pc) o sin NP (C) en la suspensión de H. Entre 1 y 24 hs post trasplante, se extrajo el hígado y se cuantificaron los H trasplantados (fluorescentes) en al menos 15 campos microscópicos al azar para cada condición. Los resultados se expresaron en porcentajes de áreas con células fluorescentes respecto al área total de los campos analizados, corregidos por la masa de H inyectada: C t1h= $0,16 \pm 0,01$; NP t1h= $6,34 \pm 0,44$; C t24h= $3,50 \pm 0,43$; NP t24h= $13,52 \pm 0,97$ ($p<0,05$; test: Mann-Whitney). La administración de NP 100 μM produce una disminución de la presión arterial de hasta el 38±7 % (valor normal: 106 ± 2 mm Hg) durante 2 min. El NP administrado simultáneamente con los hepatocitos mejora significativamente la entrada de estas células al hígado, ejerciendo un efecto transitorio en la presión arterial sin ocasionar daño al animal receptor.

- 57. (803) EFLUJO DE RODAMINA B (RB) EN HEPATOCITOS AISLADOS.** SAYAGO GABRIEL, AGÜERO Rut, RODRIGUEZ GARAY Emilio.

Cátedra de Fisiología. Fac. Cs. Médicas. UNR. Instituto de Fisiología Experimental. (IFISE) CONICET-UNR.

RB es un catión orgánico lipofílico cuya captación hepática es mayormente difusiva. Su excreción está poco caracterizada. En este trabajo, se evaluó el eflujo a fin de detectar componentes activos y pasivos. Se utilizaron hepatocitos de rata Wistar macho ($n:8$) aislados por perfusión con colagenasa (viabilidad > 80%, exclusión de Azul Tripán) que se cargaron con diferentes concentraciones de RB mediante incubación (15 min.) a 37°C. Los paquetes celulares se lavaron para eliminar la RB extracelular y se determinó el eflujo en medio sin RB a 37 y 4°C, entre 6 seg. y 30 min. Se separó célula/medio por centrifugación a través de capa oleosa. Se determinó por fluorimetría (por duplicado) la RB remanente en los hepatocitos (5×10^6 cel/ml). El rango de concentraciones iniciales de carga (CIC) (a 6 seg. de eflujo) fue de 20 a 200 pmoles $\times 10^{-6}$ cel. Los valores de eflujo se ajustaron por una monoexponencial decreciente que determinó para cada CIC, los parámetros $t_{1/2}$ (tiempo de vida media; min), S y B (componentes específico e inespecífico respectivamente; pmoles $\times 10^{-6}$ cel.). A 37°C, S y B aumentaron linealmente con CIC ($r: 0,9$). $t_{1/2}$ ($x \pm ES$; min.) se mantuvo constante $0,65 \pm 0,07$. A 4°C disminuyó el eflujo 4% para la CIC más baja y 20% para la mayor. En el rango de bajas CIC analizadas el eflujo no mostró la saturación propia de los fenómenos mediados. Sin embargo, el efecto de la temperatura y la presencia del parámetro S sugieren un posible componente activo a ser evaluado.

- 58. (855) N-ACETILCISTEINA (NAC) Y CITOPROTECCION GASTRICA.** CESOLARI José, LAUDANNO Oscar, CALVI Bruno.

Cátedra de Histología y Embriología, Gastroenterología Experimental, Facultad de Ciencias Médicas.UNR

El objetivo de este trabajo fue estudiar el agente mucolítico NAC en citoprotección gástrica y su probable mecanismo de acción. A grupos de ratas Wistar ($n=7$ c/grupo), 200g, en ayuno de 24hs. excepto agua ad-libitum y evitando la coprofagia se realizaron: 1) Sol. Fisiológica (SF) 1 ml. por sondaje orogástrico (OG)

en bolo y se esperó 60 min. (testigo). 2) NAC.20mg/Kg, OG, 60 min. 3) Etanol (ETOH) 20% 1 ml. OG, 20 min. 4) ETOH 96%, 1ml, OG, 20 min., (testigo). 5) NAC y luego ETOH 20%. 6) NAC y luego ETOH 96%. 7) Ketorolac (inhibidor de ciclooxigenasas) 30 mg/Kg. SC, 60min., NAC y posterior ETOH 96%. 8) Bicloruro de mercurio (depletor de SH) al 1%, 1 ml, SC, 30 min, NAC y posterior ETOH 96%. Las ratas fueron sacrificadas con sobredosis de éter. Se gastrectomizó y se abrió estómago por curvatura mayor, tabulándose el porcentaje (%) del área lesional macroscópica, por planimetría computarizada y se obtuvieron cortes para estudios histológicos e histoquímicos. Se calculó la t de Student y ANOVA. El % de área lesional macroscópica gástrica:1) 1.0±0.1. 2) 1.0±0.1. 3) 1.0±0.1.4) 35.5± 5.5 (<0.001). 5) 1.0±0.1. 6) 1.0±0.1(P<0.001). 7) 15.1±3.6 (P<0.03). 8) 80.1± 4.3 (P<0.02). La microscopía mostró mucosa gástrica normal en los grupos 1, 2, y 3 y necrosis superficial y profunda en 4, 7 y 8. En 6, sólo desprendimiento del epitelio superficial. Se concluyó que NAC fue un verdadero citoprotector gástrico y que su mecanismo estaría mediado por sulfhidrilos y parcialmente por las PGs endógenas.

- 59. (949) ROL DE LA PROTEÍNA RESISTENTE A MULTIDROGAS 2 (MRP2) EN EL INCREMENTO DEL FLUJO BILIAR (FB) INDUCIDO POR ESPIRONOLACTONA (E) EN LA RATA.** VILLANUEVA SILVINA, SÁNCHEZ POZZI Enrique, LUQUITA Marcelo, CROCENZI Fernando, PELLEGRINO José, OCHOA Elena, MOTTINO Aldo, CATANIA Viviana.

Instituto de Fisiología Experimental (CONICET)-Facultad de Cs. Bioq. y Farm (UNR)

Mrp2, proteína transportadora de aniones orgánicos conjugados con glutatión, sulfato o ácido glucurónico, se ubica en la membrana apical del hepatocito. Previamente observamos que E produce un aumento en la expresión de mrp2 (70% por western blot) y en la velocidad de excreción (VE) de un sustrato modelo en hepatocitos aislados (50%). Por otro lado se sabe que E aumenta el FB, aunque el mecanismo es desconocido. En este trabajo, se evaluó el efecto de E (200 μ moles/kg peso en ratas Wistar machos adultas/día, 3 días) sobre la VE de sales biliares (SB), el FB independiente de SB (FBISB) y la VE de glutatión (GSH), el cual es transportado por mrp2 y contribuye a la formación del FBISB. Además, se determinó espectrofotométricamente la concentración de GSH en hígado y en bilis. Los controles (C) recibieron el vehículo de E. Resultados: FB total (μ l/min/g hígado, media \pm SE, n=3-4): E=3.2 \pm 0.1 (p<0.05) vs C=2.1 \pm 0.1; FBISB: E= 2.5 \pm 0.1 (p<0.05) vs C= 1.7 \pm 0.1; VESB (nmol/min/g hígado): E= 31 \pm 6 no diferente de C= 42 \pm 5. La concentración de GSH en tejido hepático no difirió entre grupos, sin embargo, la VEGSH (nmol/min/g hígado, n=4) fue mayor (p<0.05) en el grupo E (13.0 \pm 0.1) con respecto a C (5.4 \pm 0.9). Conclusión: E aumenta el flujo biliar, al menos en parte, a expensas de la fracción independiente de SB. El mecanismo involucrado en este fenómeno podría ser el aumento en la velocidad de excreción de GSH, como consecuencia de un aumento en la expresión de la proteína transportadora mrp2.

- 60. (1025) SOLUCION DE LA UNIVERSIDAD DE WISCONSIN (UW) Y S-NITROSOGLUTATION (GSNO): INHIBICIÓN DE LA ACTIVACION DE PROTEASAS DURANTE LA PRESERVACION HIPOTERMICA DE HIGADOS DE RATAS.** QUINTANA ALEJANDRA, LENZI Henrique*, RODRIGUEZ Joaquin**, GONÇALVES CAPUTO Luzia*, GUIBERT Edgardo***

*Morfología *Patología, Fundação Oswaldo Cruz, Brasil. **Farmacología; ***Biología Molecular, FCBYF, UNR.*

En estudios anteriores demostramos que el agregado de GSNO (100 μ M) a la UW previene el daño morfológico por preservación hipotérmica/reperfusión de hígados. Durante la preservación, se activan metaloproteinasas (MMPs) que alteran la matriz extracelular hepática (MEH). El objetivo de este trabajo fue estudiar la activación de MMPs durante la preservación hipotérmica de hígados de ratas en solución UW y evaluar el efecto de la adición de GSNO (100 μ M) sobre la actividad de estas enzimas y la integridad del colágeno de la MEH. Hígados de ratas Wistar adultas fueron preservados en solución UW (48hs;0°C) y posteriormente se

reperfundieron utilizando el Modelo de Hígado Aislado. Se trabajó con 4 grupos experimentales: controles normales (I); controles de reperfusión (II); hígados preservados 48hs en UW y reperfundidos (III); e hígados preservados 48 hs en UW más 100 μ M GSNO y reperfundidos (IV). Se estudió la actividad gelatinolítica de las MMPs en los grupos II, III y IV, identificándose la MMP-2 y la MMP-9. El grupo IV, presentó una menor actividad de la MMP-2 respecto al grupo III, no detectándose actividad gelatinolítica en el grupo II. Los grupos II, III y IV mostraron una disminución del colágeno tipo I con respecto al grupo I, siendo esta disminución sustancialmente menor para el grupo IV que mantuvo, además, la organización de la trama colágena. El agregado de 100 μ M GSNO al inhibir parcialmente la actividad de la MMP-2 protege, en gran parte, la integridad de la MEH.

- 61. (1049) EL FACTOR NATRIURETICO DE TIPO C (CNP) DISMINUYE LA SECRECION BILIAR EN LA RATA A TRAVES DEL RECEPTOR NPR-C.** SABBATINI MARÍA E., RODRIGUEZ Myrian, CASTRO Jose, GONZALES Soledad, DABAS Paula, VATTA Marcelo, FERNANDEZ Belisario, BIANCIOTTI Liliana.

Cátedras de Fisiopatología, Farmacología y Química Biológica Vegetal. Fac de Farmacia y Bioquímica, UBA.

En estudios anteriores demostramos que CNP reduce el flujo biliar dependiente de ácido biliares y que el sistema nervioso autónomo no media sus efectos. Se estudiaron los posibles cambios hemodinámicos inducidos por CNP y los receptores involucrados. El CNP 1, 5 y 7 μ g/kg no modificó la presión arterial sistémica ni la presión venosa portal en ninguno de los tiempos estudiados. El CNP (5 μ g/kg) tampoco modificó la excreción de glutatión total (nmol/min/100 g) (C: control) (30min: C: 11.4 \pm 1.7; CNP: 6.4 \pm 1.6; 60min: C: 8.3 \pm 1.7; CNP: 7.2 \pm 1.2; 90min: C: 9.2 \pm 1.3; CNP: 6.9 \pm 1.8; 120min: C: 7.3 \pm 1.5; CNP: 5.6 \pm 0.7) ni la excreción de proteínas totales (μ g/min/100 g) (30min: C: 9.0 \pm 2.3; CNP: 12.4 \pm 0.8; 60min: C: 11.4 \pm 1.6; CNP: 13.7 \pm 1.5; 90min: C: 14.2 \pm 0.6; CNP: 11.8 \pm 1.3; 120min: C: 14.7 \pm 1.2; CNP: 11.4 \pm 1.0). La administración de un agonista específico del receptor NPR-C (C-ANP-(4-23)) mimetizó los efectos del CNP sobre la secreción biliar (μ l/min/100 g) (*: p<0.01vs.C) (30min: C: 5.9 \pm 0.3; CNP: 3.3 \pm 0.2*; ANP-(4-23): 3.3 \pm 0.3*; 60min: C: 5.5 \pm 0.3; CNP: 3.3 \pm 0.3*; ANP-(4-23): 3.3 \pm 0.4*; 90min: C: 5.4 \pm 0.8; CNP: 3.1 \pm 0.2*; ANP-(4-23): 3.2 \pm 0.5*; 120min: C: 4.9 \pm 0.2; CNP: 3.0 \pm 0.4*; ANP-(4-23): 3.3 \pm 0.5*). El CNP reduce el flujo biliar dependiente de ácidos biliares sin modificar la fracción independiente (evaluada por excreción de glutatión). La respuesta de CNP no está mediada por variaciones hemodinámicas y su efecto estaría mediado en parte por activación del receptor NPR-C.

- 62. (1064) LA ADMINISTRACION CENTRAL DE ENDOTELINA 3 (ET-3) DISMINUYE LA SECRECION BILIAR EN LA RATA.** RODRIGUEZ MYRIAN, SABBATINI María, CASTRO José, VESCINA Cristina, VATTA Marcelo, BIANCIOTTI Liliana.

Cátedras de Fisiopatología, Fisiología, Farmacología y Qca. Analítica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Diversos estudios muestran que la ET-3 tiene efectos a nivel del hígado. En el presente trabajo estudiamos los efectos de la ET-3 administrada a nivel central (icv) sobre la secreción biliar en la rata. La administración icv de ET-3 (2 μ M) redujo la secreción biliar basal (μ l/min/100g) (*:p<0.05 vs. Control (C)) (15min:C: 5.3 \pm 0.2; ET-3: 4.3 \pm 0.2*; 30min:C: 5.1 \pm 0.2; ET-3: 4.2 \pm 0.2*; 45min:C: 4.6 \pm 0.1*; ET-3: 4.0 \pm 0.2*; 60min: C: 4.6 \pm 0.2; ET-3: 3.7 \pm 0.2*) disminuyendo la excreción de los ácidos biliares (AB) (μ mol/min/100g x10-2) (15min:C: 11.5 \pm 0.4; ET-3: 6.4 \pm 0.1*; 30min:C: 10.7 \pm 0.4; ET: 6.7 \pm 0.6*; 45min:C: 9.5 \pm 0.2*; ET-3: 4.8 \pm 0.2*; 60min:C: 7.7 \pm 0.4; ET: 4.6 \pm 0.1*), no modificando la excreción de glutatión ni la secreción biliar estimulada por sales biliares. La ET-3 icv no modifica la presión arterial media ni la presión portal ni media sus efectos a través del sistema nervioso autónomo. El antagonista del receptor ETA, BQ-610, no revierte el efecto de ET-3 sobre la secreción biliar (15 min:BQ: 4.9 \pm 0.7; BQ+ET-3: 4.3 \pm 0.1*; 30min: BQ: 4.7 \pm 0.06; BQ+ET-3: 4.0 \pm 0.2*; 45min:BQ: 4.6 \pm 0.4; BQ + ET-3: 4.0 \pm 0.2*; 60min : BQ: 4.7 \pm 0.6; BQ + ET: 4.0 \pm 0.2*). La ET-3 administrada a nivel central reduce el flujo biliar dependiente de ácidos biliares, sin modificar la fracción independien-

te. La acción central de ET-3 sobre la secreción biliar no está mediada por el sistema nervioso autónomo ni por variaciones hemodinámicas. El receptor ETA no media la respuesta central de ET-3.

63. (1168) LA CITOTOXICIDAD DE LA SUBUNIDAD B DE LA TOXINA SHIGA TIPO 2 ASOCIADA AL LPS. MARTÍN Fernando Ariel, PISTONE CREYDT Virginia, ZOTTA Elsa, IBARRA Cristina.

Laboratorio de Fisiopatología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina - UBA -

La toxina Shiga tipo 2 (Stx2) producida por E.coli enterohemorrágica (EHEC) produce una variedad de síntomas clínicos caracterizada por diarrea acuosa, colitis hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Stx2 posee una subunidad A citotóxica y una subunidad B pentamérica de unión a su receptor. En nuestro laboratorio, hemos observado que sobrenadantes de cultivos de E. coli recombinante que expresan la subunidad B de Stx2 (Stx2B) intervienen en los mecanismos que regulan la absorción de agua a través de la mucosa colónica humana. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos citotóxicos de Stx2B purificada y el rol del LPS en colon in vitro. Fragmentos de colon de rata se montaron en una cámara de Ussing y se incubaron con distintas concentraciones de Stx2B purificada por cromatografía de afinidad. El flujo neto de agua (Jw) y la corriente de cortocircuito (Isc) se registraron simultáneamente. Los estudios morfológicos se analizaron mediante tinción de H&E y posterior observación por microscopía óptica. Una inhibición de Jw se observó en fragmentos de colon incubados con Stx2B, a concentraciones mayores de 750ng (p 0,05), sin cambios en Isc. A menores concentración los efectos fueron detectados en presencia de dosis atóxicas de LPS (100 g/ml). En ambas condiciones experimentales, se mantuvo la integridad de la superficie colónica. Estos resultados indican que Stx2B es tóxica per se y que estos efectos son potenciados por LPS.

HEMATOLOGÍA I

64. (515) SEROPREVALENCIA DE INFECCION POR VIRUS LINFOTROPICO T HUMANO TIPO I Y II (HTLV-I/II) EN BANCOS DE SANGRE CENTINELAS DE LA PROVINCIA DE RIO NEGRO. BIGLIONE MIRNA, SCIULLI María, SALOMON Horacio, GAZIA Graciela.

Centro Nacional de Referencia para SIDA. Microbiología. Facultad de Medicina. UBA. Programa Provincial de SIDA/ETS y Centro Provincial de Referencia. Hospital Viedma.Rio Negro.

El HTLV-I y II, endémicos en diversas poblaciones, están presentes en usuarios de drogas endovenosas y donantes de sangre. HTLV-I es causante etiológico de la Leucemia de células T del adulto y la Mielopatía Asociada/ paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). Al HTLV-II se le atribuye un eventual rol patogénico. En base al muestreo de una población con bajo riesgo de infección, el objetivo fue determinar la seroprevalencia y características epidemiológicas de infección por HTLV I/II en donantes de sangre. En 1999, se designaron 6 Sitios Centinelas para estudiar infección por HTLV-I/II. Entre 1999/01, se estudiaron 14215 de 20067 donantes. De 28 muestras reactivas por aglutinación (Serodia, Bayer) en donantes de Viedma, San Antonio, Gral. Roca, Cipoletti, El Bolsón y Bariloche, 2 resultaron HTLV-I y 5 HTLV-II seropositivos por WB (HTLV Blot 2.4 Genelabs Diagnostic). Dos HTLV-II eran mujeres mestizas de procedencia chilena y el resto varones argentinos caucásicos. Todos ellos adultos sin antecedentes de exposición/riesgo. En el 2002, se incorporaron al estudio 4 hospitales (Villa Regina, Allen, Cinco Saltos y Gral Conesa) y de los 1262 donantes estudiados en el primer cuatrimestre todos resultaron negativos. La seroprevalencia final fue de 0,05% (7/14.215). Considerando que el rastreo no fue en forma continuada y que existe un 60% de riesgo de transmisión con una unidad infectada por HTLV-I/II se reitera la necesidad de detección obligatoria en bancos de sangre.

65. (630) DIFERENCIACIÓN ENTRE LA PROTEASA RELACIONADA A LA FIBRONECTINA (PRFN), OTRAS PROTEASAS DESCRITAS QUE CLIVAN AL FACTOR VON WILLEBRAND (VWF) Y METALOPROTEASAS DE LA MATRIZ (MMP) KEMPFER ANA CATALINA, FARIAS Cristina, SILAF María R., CARBALLO Gonzalo A., AMARAL María M., WOODS Adriana I, LAZZARI María Angela.

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina (CONICET), Buenos Aires

Fue nuestro objetivo diferenciar la PrFn (Mr=60kD) (obtenida de FN impurificada), que previamente describimos, de otras proteasas que clivan al VWF como WFCP (Mr=300kD) y TSP-1(Mr=500kD) con las que puede co-purificar en geles conjugados con gelatina. También co-purifica con MMP2 (afinidad a la heparina) y MMP9, ya que las MMP degradan macromoléculas. Se ensayó la actividad proteásica (n=3) de: -fracciones plasmáticas A (Mr >90kD) y B (Mr<90kD) -A' y B' compuestos de afinidad a la gelatina de A y B -X e Y compuestos de afinidad con Zn²⁺ inmovilizado de A' y B' respectivamente -Fragmentos FA' y FB' de afinidad creciente a la heparina de A' y B'. Las actividades de las MMP se localizan por zimografía (n=3). El producto A'(1.50mg/ml) y el X(0.04mg/ml) contienen MMP9, el B'(0.60 mg/ml) y el Y (0.34mg/ml) contienen MMP2, ninguno exhibió actividad proteásica.

Producto (mg/ml)	Intensidad de MMP2 (Mr=60kD) X±SD	Intensidad MMP9 (Mr=90kD) X±SD	%Actividad proteásica X±SD
FA'1	0	16±4	38±6
FB'1	15±3	0	0
FB'2	4±1	0	21±4
FB'3	0	0	42±10

PrFn está presente en FB'3 y no tiene analogía con MMP9, WFCP y TSP-1 presentes en FA'1; tampoco con MMP2 presente en FB'1 y FB'2.

66. (755) ACTIVIDAD DE LA PROTEASA QUE CLIVA AL FACTOR VON WILLEBRAND (VWF) EN PACIENTES CON HISTORIA DE PREECLAMPSIA. RESULTADOS PRELIMINARES. AMARAL MARÍA M., SÁNCHEZ LUCEROS Analía, FARIAS Cristina, CARBALLO Gonzalo, KEMPFER Ana C, LAZZARI María A.

Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R. Castex" CONICET, Buenos Aires

Se ha demostrado la importancia de la disfunción de la VWF en diversos síndromes de microangiopatía trombótica (MAT). La preeclampsia presenta algunas características de MAT. En el presente trabajo evaluamos la VWF en el plasma de pacientes, con y sin antecedentes de preeclampsia con el objetivo de evaluar si la deficiencia de la VWF se asocia con la aparición de la enfermedad. Se estudiaron: 6 mujeres con historia de preeclampsia en embarazo previos y 5 mujeres durante el puerperio tardío de un embarazo complicado con preeclampsia. Como población control se estudiaron: 17 mujeres normales, no embarazadas, excluyendo mujeres nulíparas, y 37 púerperas tardías normales. Se ensayó la VWF de los plasmas sobre el VWF purificado por diálisis con urea, previa activación con Ba²⁺. La evaluación del efecto de la proteasa sobre el VWF se hizo por VWF:CB por ELISA. El grupo de mujeres con historia de preeclampsia en embarazos previos presentó una media de actividad de la VWF significativamente menor con respecto a las mujeres con historia de embarazos normales (71% ±19 vs. 83% ±17, p=0,032). La media de la actividad de la VWF en mujeres durante el puerperio tardío de un embarazo con preeclampsia, fue significativamente menor a la presentada por las púerperas tardías normales (67% ±14 vs. 102% ±25, p=0.002). Conforme a estos resultados, la evaluación de los niveles de la VWF podría ser útil como un marcador de riesgo de preeclampsia.

67. (764) UNION DE GALECTINA-1 ESPLÉNICA PORCINA A NEUTRÓFILOS HUMANOS. CHIESA María, FINK Nilda, ELOLA María, PISTACCIO Luis.

Cátedra de Hematología, Departamento de Ciencias Biológicas-Facultad de Ciencias Exactas-UNLP. Servicio de Hematología, Hospital Interzonal de Agudos Sor María Ludovica, La Plata

Se estudió la presencia de ligandos endógenos para la galectina-1 de bazo porcino (SPG1) en neutrófilos (PMN) humanos en reposo y activados con fmlp (1mM) y PMA (10ng/mL), por citometría de flujo (CF) y por aglutinación (A). Para CF, se incubaron 2×10^6 PMN/ml con galectina-1 (0 - 10 μ M) 30 min a ta, seguido de incubaciones sucesivas con anti-(SPG1) y anti IgG de conejo- FITC y se analizaron en un citómetro Coulter EPICS-XL. Para A, 3×10^6 PMN/ml se incubaron con SPG1 (concentración final: 0 -10 mM). Se registró el grado de aglutinación y PMN libres por microscopía, para cada concentración. Los histogramas obtenidos por CF (n=3), muestran un incremento de la intensidad de fluorescencia siendo para concentraciones de SPG1 5 y 2,5 μ M, 34 y 26 % respectivamente, respecto a los controles (3%) guardando una relación dosis-respuesta. Estos resultados indican una interacción SPG1/PMN, parcialmente inhibible con lactosa (Relación de positividad RP disminuye en 50 - 60%) confirmando así la unión carbohidrato-dependiente; la activación de PMN triplicó la RP para ambos activadores. En los ensayos de aglutinación (n=3) se observó entre 16 - 1,7% de células libres respecto al control para el rango de 2,5 - 10 mM. Se confirma la presencia de ligandos totales para la SPG1 en la superficie del PMN humano, parcialmente inhibibles por lactosa, estando pendiente de dilucidar la identidad y función de dicho/s componente/s de membrana.

- 68. (807) MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITIS POR CRISTALES TRATADAS CON LÁSER DE ARSENIURO DE GALIO.** CAMPANA VILMA, MOYA Mónica, GAVOTTO Antonio, SIMES Juan, SPITALE Luis, PALMA José.

Cátedra de Física Biomédica.UNC

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar en ratas el efecto del láser de Arseniuro de galio (As. Ga) en artropatías microcristalinas inducidas por hidroxapatita (HP), pirofosfato cálcico (PC) y uratos (U), mediante la determinación de fibrinógeno (F) y proteína C reactiva en plasma y estudio anatomopatológico (AP). Los animales tratados (A) se dividieron en 3 grupos (HP, PC y U) de n: 8 c/u, se inyectaron 2 mg. de cada cristal, durante 2 días en ambas articulaciones de los miembros posteriores y se aplicó láser por 1'. De la misma manera se dividieron los grupos no tratados (B) posteriormente a las inyecciones. F fue determinado por espectrofotometría (mg/100mL) y la pCr por método inmunoturbidimétrico (mg/dL), 96 hs. posterior a la última inyección. Las secciones AP se colorearon con Hematoxilina Eosina y observadas por microscopio óptico. No existió diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control: F: (201 \pm 9,58) y pCr (0,137 \pm 0,02) y los tratados (A) HP (231,2 \pm 12,2) - (0,198 \pm 0,01); PC (182,9 \pm 18,3)-(0,213 \pm 0,04) y U (205,7 \pm 17,6)-(0,021 \pm 0,04), pero sí entre los grupos tratados y no tratados (p<0,001). AP en A y B mostró infiltrado crónico inflamatorio. A pesar que el tratamiento con láser redujo los niveles plasmáticos de F y pCr no se obtuvo una regresión histopatológica del foco inflamatorio, quizás por ser insuficiente el tiempo de aplicación y/o tratamiento con láser de As Ga, siendo relativo el efecto antiinflamatorio.

- 69. (878) ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES DEL FACTOR VON WILLEBRAND LEUCOCITARIO.** SAVINO JESSICA, LAZZARI María A, KEMPFER Ana C, AMARAL María M, MAUGERI Norma.

IHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

Hemos descripto que los PMN circulan con factor von Willebrand (VWF) asociado establemente a su superficie, mientras que otros grupos demostraron la unión del dominio A2 a las integrinas leucocitarias. Sabiendo que el VWF es clivado por las proteasas leucocitarias, nos propusimos analizar las características estructurales del VWF asociado a los PMN circulantes. Se compararon las muestras de VWF obtenido de plaquetas (VWF-p) y PMN (VWF-L) de individuos sanos así como el de un concentrado comercial (VWF-

c). Por el análisis del patrón multimérico (método de Aihara) vimos que el VWF-L sólo presenta multímeros de muy bajo peso molecular (n=4). El análisis por western blott, en condiciones de no reducción demostró el VWF-L presenta solo dos bandas de aproximadamente 80 y 30kDa (las cuales desaparecen en condiciones de reducción). Estos valores coinciden con los descriptos por Remuzzi, para las formas de VWF que contienen únicamente los dominios A1-A2-A3. La coincubación del VWF-c con proteasas leucocitarias (PMN estimulados con fMLP 1 μ M, citocalacina B 2.5 μ g/mL, 10 min, 37°C) no generó la aparición de las bandas de 80 y 30 kDa observadas en VWF-L (n=6). Nuestros resultados indican que el VWF leucocitario es de muy bajo peso molecular, probablemente dimérico, y que su estructura no parecería ser consecuencia del efecto de las proteasas leucocitarias.

- 70. (881) LINFOMA DE HODGKIN: EPIDEMIOLOGIA DE SU ASOCIACION CON EL VIRUS DE EPSTEIN BARR.** DE DIOS SOLER MARCELA, MARTIN Carlos, SAPIA Sandra, CABRERA RON Patricia, NARBAITZ Marina.

Academia de Nacional de Medicina Hospital San Roque, La Plata. Sanatorio Mater Dei, Buenos Aires

La prevalencia del virus de Epstein Barr (EBV) en el Linfoma de Hodgkin (LH), varía de acuerdo a subtipo histológico, edad, sexo y condiciones socioeconómicas. El objetivo del estudio fue correlacionar su asociación con los distintos parámetros en una población argentina no seleccionada y comparar los resultados con los publicados por otros países. Material y métodos: Se estudiaron 138 casos (81 varones, 57 mujeres) de 3 a 84 años de edad. La búsqueda viral se realizó por inmunohistoquímica (LMP1) e hibridización in situ (EBERs). Resultados: setenta fueron celularidad mixta (CM), 56 esclerosis nodular (EN), 6 predominio linfocitario (PL) y 6 depleción linfocitaria (DL). En 39 de los 138 casos (28.3 %) las células neoplásicas expresaron LMP1 y EBERs. Ambos marcadores fueron detectados en 31 casos de CM, 4 de DL y 4 EN. La prevalencia global (28.3%) fue menor a la reportada por otros países especialmente para el subtipo CM, dato que podría surgir de las condiciones socioeconómicas y característica etaria mayoritaria (adolescentes y adultos jóvenes) de la población estudiada. Coincidiendo con datos internacionales el subtipo PL no se asoció a EBV, la asociación fue más frecuente en el sexo masculino (relación hombre mujer 2,9:1) y con el subtipo CM. Al igual que en otros países subdesarrollados y a diferencia de los desarrollados, la asociación fue común en niños (100% en menores de 6 años) e infrecuente en adultos jóvenes, especialmente aquellos con el subtipo EN.

- 71. (890) EFECTO DEL ACIDO 5-AMINO LEVLINICO (ALA) SOBRE EL STRESS OXIDATIVO EN GLÓBULOS ROJOS (GR) Y SOBRE LA REOLOGIA SANGUINEA.** MARTINEZ SARRASAGUE María Margarita, HUARTE Mónica, TORTI Horacio, SARACO Nora, CIMATO Alejandra.

Catedra de Física, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

El ALA, hemoprecursor que se acumula en la porfiria aguda intermitente (PAI) y en el saturnismo, sufre un proceso de oxidación generando radicales libres. El objetivo del trabajo fue evaluar los efectos de altas concentraciones de ALA sobre GR; para ello se analizaron indicadores de stress oxidativo y parámetros reológicos sanguíneos. Sangre de individuos sanos se incubó 4 hs a 37°C con y sin ALA (60 μ M). Los indicadores de stress: peroxidación basal, resistencia al stress, capacidad antioxidante del plasma (CAOP); fueron medidos por la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBARS). La microviscosidad interna y la fluidez de membrana se analizaron por resonancia paramagnética electrónica (EPR). Elevadas concentraciones plasmáticas de ALA provocaron un aumento de la oxidación basal de los GR y de la respuesta al stress oxidativo inducido. Se observó una disminución del parámetro de orden "S" en la membrana del GR. No se halló ningún cambio en la microviscosidad interna del GR ni se vio alterada la CAOP. Los resultados indican que el ALA provoca daño directo sobre GR, incrementando la susceptibilidad a la oxidación y la fluidez de membrana. En este estudio no se registraron alteraciones en la microviscosidad interna (indicador de cambios en el medio interno del GR), ni de la CAOP,

probablemente debido al corto período de incubación. Para comprobar los daños crónicos causados por altas concentraciones plasmáticas de ALA se harán estudios con pacientes con PAI e intoxicación con Pb.

- 72. (897) LINFOMAS PLASMABLASTICOS: SU ASOCIACION CON LOS VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA, HERPES 8 Y EPSTEIN BARR.** DE DIOS SOLER MARCELA, MARINA Narbaitz, SAPIA Sandra, ZANETTO Ulises, MARTIN Carlos.

Academia Nacional de Medicina. Sanatorio Mater Dei; Laboratorio de Patología, Mar del Plata; Hospital San Roque La Plata.

El linfoma Plasmablastico (LP) es una variante morfológica del Linfoma Difuso de Células Grandes B. Inicialmente caracterizado como una entidad clinicopatológica con una morfología e inmunofenotipo particulares asociada a localización en cavidad oral e infección por HIV. El objetivo del estudio fue establecer su asociación con la infección por los virus de inmunodeficiencia humana (HIV), Epstein Barr (EBV) y herpes tipo 8 (HHV 8). Materiales y Métodos: Se estudiaron 10 casos (5 varones, 5 mujeres) de 13 a 60 años de edad. Dos fueron ganglionares y 8 extranodales (mucosa oral, anal, testículo y orofaringe). Los casos fueron evaluados mediante examen histológico y panel inmunohistoquímico completo. En 8 de 10 muestras se efectuó búsqueda de EBV y HHV 8 por inmunohistoquímica y/o hibridación in situ. Resultados: Cuatro de 8 fueron HIV positivos. Cinco/8 EBV+ y 3/8 HHV8+. De los casos 5 casos EBV+: 3 eran HIV+ y 2 HIV-. Los 3 casos HHV8+ eran HIV-. Ninguno de los casos mostró coinfección por EBV y HHV8. La asociación de los LP con infección por HIV no es constante, ya que se han reportado casos (como en nuestra serie) en pacientes HIV negativos. En los pacientes HIV positivos, así como en otras patologías relacionadas a inmunodeficiencia, parecería jugar un rol importante la infección por EBV, asociación observada en tres de los 4 pacientes HIV positivos del presente estudio. Las lesiones en pacientes HIV negativos se asociaron a HHV 8.

- 73. (907) VARIANTE TERMOLABIL DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO-REDUCTASA (MTHFR): ¿FACTOR DE RIESGO TROMBOTICO?** CASTAÑÓN María Mercedes, GENOUD Valeria, GAMBA Cecilia, QUINTANA Irene.

Laboratorio de Hemostasia y Trombosis, Depto. Qca. Biológica -Fac. Cs. Exactas y Naturales, U.B.A.

La metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR) es una de las enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína (Hcy). Los niveles elevados de Hcy constituyen un importante factor de riesgo aterotrombótico. La sustitución C677T en el gen de la MTHFR resulta en una variante termolábil con actividad enzimática disminuida, que ha sido asociada con hiperhomocisteinemia y riesgo de enfermedad vascular. Sin embargo, aún existen controversias respecto a estas asociaciones. Objetivos: Estudiar la relación entre la concentración plasmática de Hcy y la presencia del polimorfismo C677T. Determinar si este polimorfismo constituye un factor de riesgo independiente para trombosis venosa (TV). Se evaluaron pacientes con TV sin otras patologías asociadas y se excluyeron aquellos con factores de riesgo trombótico establecidos (Grupo Tr, n=82). Como grupo control (Grupo C, n=50) se estudiaron individuos sanos con distribución etárea y de sexos similares al Grupo Tr. Se determinaron los niveles de Hcy (ELISA) y el genotipo en la posición 677 de la MTHFR (PCR). Los niveles de Hcy en presencia o ausencia del polimorfismo no mostraron diferencias significativas. La frecuencia del alelo T resultó 0,49 y 0,41 en el Grupo Tr y C respectivamente y no se observaron diferencias en la distribución genotípica entre los dos grupos. No se encontró asociación entre el polimorfismo C677T y los niveles de Hcy. La presencia de la variante termolábil no resultó factor de riesgo para la trombosis venosa.

- 74. (1129) MODIFICACION DE LA RESPUESTA A ERITROPOYETINA EN CÉLULAS DEPENDIENTES Y NO DEPENDIENTES DE LA HORMONA** VITTORI DANIELA, PREGI Nicolás, PEREZ Gladys, GARBOSSA Graciela, NESSE Alcira.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA

En trabajos previos demostramos que la exposición a compuestos de aluminio (Al) inhibe la respuesta de progenitores eritroides a la eritropoyetina (Epo). Nuestro objetivo fue estudiar los efectos del Al sobre mecanismos de activación por Epo. Se empleó la línea celular Epo-dependiente UT-7 y la no dependiente K562. Células K562 cultivadas con Al y estimuladas con Epo mostraron, por inmunoprecipitación y Western blot, disminución en los niveles de receptor para Epo (REpo). La menor expresión del REpo estuvo asociada a una disminución del REpo-ARNm determinado por RT-PCR. La Epo produjo disminución del 55±5% de la apoptosis (técnica de Hoescht) inducida por hemina, mientras que el Al disminuyó esa protección en un 30%. En cambio, en las células UT-7 no se observó un efecto del Al sobre la apoptosis, en tanto que los niveles del REpo, así como su fosforilación, se encontraron aumentados. El tratamiento crónico con Al aumentó el número de células viables con respecto al control [(1,1±0.03 vs. 0,8±0.03)10((6)) cél/ml, n=5, p<0,05]. El aparente efecto aditivo del Al con la Epo en las células UT-7 podría deberse tanto a aumento de señales de activación del REpo por su ligando específico como a inhibición de sistemas supresores. Los resultados muestran que el Al afecta por distintos mecanismos a células que difieren en su ciclo celular y en la expresión del REpo. La intoxicación por Al de estas dos líneas aparece como un modelo útil para investigar mecanismos de la eritropoyesis.

INMUNOLOGÍA II

- 75. (655) TNFA Y MOLECULAS RELACIONADAS EN LINFOCITOS INTESTINALES INTRAEPITELIALES (LIEI) EN UN MODELO DE INMUNODEFICIENCIA SECUNDARIA EN RATAS WISTAR.** OLMOS SOFIA, FRECHA Cecilia, BLOIS Sandra, QUIROGA Florencia, ROUX María

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires Lab.de Inmunol. Cel.

Estudios en ratas Wistar que sufrieron deprivación proteica severa al destete y renutridas con caseína 20% por 21 días (R21) demostraron: a) existencia de un proceso inflamatorio acompañado por aumento en la fragmentación de ADN (Mol Biol Cell, v12, 2001); b) la administración oral del inmunomodulador timomodulina en la renutrición (TmB) revierte estos hallazgos. El objetivo de este estudio fue analizar los mecanismos implicados en las observaciones mencionadas y estudiar el efecto del TmB. Se determinó: a) TNF α (ELISA) y su coexpresión con TCR γ d y CD8 α a (citometría de flujo); b) TNF-RII y NF κ B (inmunofluorescencia indirecta -IFI). Resultados: a) ELISA, TNF α , n10, X \pm ES, pg/ml, C60 vs R21vsTmB; ANOVA/Tukey-Kramer: 255±27 vs 868,74±216,7 vs 213, 87±33,01 p<0,001; b) Citometría de flujo: X \pm ES del porcentaje de células+, n=7, C60 vs R21vsTmB, ANOVA/Tukey-Kramer: TCR γ d/TNF α : 5,8±2,9 vs 20,5±5,1 vs 3,6±3,1 p<0,05; CD8 α a/TNF α : 5,52±1,9 vs 23,5 ±12,1 vs 0,69 ± 0,3 p<0,05; c) IFI: N° de células en 30 campos, X \pm ES, C60 vs R21vsTmB; TNF-RII: 19,4±2,7 vs 25,2±3,1 vs 14,2±1,4, p<0,03; NF- κ B: 17,6±1,8 vs 23,2±2,6 vs 14,0±1,1 p<0,01. Conclusiones: a) se observa colocalización del TCR γ d y del CD8 α a con el TNF α y un aumento en los niveles de TNF α en fluido intestinal; 2) se detectó aumento de TNF-RII y NF κ B en R21 coincidente con la alta fragmentación de ADN previamente descrita; 3) el inmunomodulador revierte las alteraciones observadas en R21 actuando como agente terapéutico. CONICET PIP 4147, UBA B064.

- 76. (665) LINFOCITOS BRONQUIOALVEOLARES DE RATAS WISTAR. COLOCALIZACION ENTRE TCR GD Y TNF-A.** FRECHA CECILIA, OLMOS Sofia, ARIAS Karina, ROUX María.

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires Lab. de Inmunología Celular

Estudios previos sobre el desarrollo de células inmuno-competentes en el Tejido Linfoide Asociado Bronquios (BALT) de ratas Wistar, han demostrado que cuando aparecen los primeros BALUs (4 días postpartum) existe un alto número de células T TCR gd+ (Dev. Comp Immunol 2000). Hemos determinado (SAIC 2001) la aparición temprana de células IL-6+, IL-10+ y TNF-a+, siendo relevante el número de estas últimas a los 4 días de edad. El objetivo de este trabajo fue determinar si existe colocalización de TNF-a con TCR gd. Sobre cortes histológicos del tracto respiratorio inferior de ratas de 4 y 60 días de edad se determinaron células TNF-a+/TCRgd+ por Inmunofluorescencia Doble y se cuantificaron por Citometría de Flujo en linfocitos de Lavados Bronquioalveolares. Resultados: Citometría de flujo: a) 4 días: 2.25 ± 0.251 ; b) 60 días: 5.49 ± 1.25 (WinMdi 2.8) Conclusiones: Las células TCRgd+ colocalizan con TNF-a. Esto concuerda con el hecho de que las células TCR gd+ se autoestimulan, dado que pueden producir y secretar TNF-a. CONICET PIP 4147, UBA B 064

77. (790) MODIFICACIONES DE LAS CÉLULAS M DE APÉNDICE CECAL DE CONEJO FRENTE A LA SENSIBILIZACIÓN Y DESAFÍO CON OVOALBÚMINA (OVA). ROMA STELLA, PEREZ Fernando, DLUGOVITZKY Diana.

Cát Histología y Embriología y Sección Inmunología. Cát Microbiología. Facultad de Cs Médicas. UNR.

Las células M (cel M) se hallan revistiendo las placas de apéndice cecal e intervienen en el transporte de antígenos lumbinales a los leucocitos mononucleares intraepiteliales. En conejo desarrollan un citoesqueleto con filamentos de Vimentina, detectables por inmunohistoquímica. El objeto de este trabajo fue analizar modificaciones en número y distribución de cel M Vimentina (+) en placas apendiculares de conejos sensibilizados y desafiados por vía oral con OVA. 40 conejos New Zealand se dividieron en Grupo (G)1: control. G2: sensibilizados con OVA. G3: no sensibilizados y desafiados con OVA. G4: sensibilizados y desafiados con OVA. Muestras de apéndice cecal, fijadas en formol buffer se incluyeron en parafina y se inmunomarcaron con Ac Mo anti Vimentina A. Las cel M Vimentina (+) se contaron por placa apendicular estimándose la media aritmética de cel M / placa. Evaluación estadística: análisis de la variancia y Tukey test. Resultados: la sensibilización se evaluó con el test de anafilaxia cutánea pasiva positivo en 160 diluciones. G1: 24.7 ± 1.06 células por placa; en G2: 34.1 ± 1.16 , en G3: 23.9 ± 1.01 y en G4: 21.2 ± 0.69 ($p < 0.05$). En G1, G3 y G4 las cel ML se localizaron especialmente en el área media de las placas, extendiéndose en G2 hacia el ápice. 412 La sensibilización induce un aumento significativo de cel M y de la zona que ocupan, atribuible a factores inductores del microambiente celular y su caída se debería a menor diferenciación celular o mayor apoptosis.

78. (1052) INCREMENTO EN LA EXPORTACIÓN TÍMICA Y EN EL TRÁFICO CELULAR DE LINFOCITOS CD8+ A LOS GANGLIOS LINFÁTICOS EN RATONES MUTANTES NACKT. LOMBARDI GABRIELA, BURZYN Dalia, COSTA Héctor, PEPER Marcela, GARGINI Ricardo, PIAZZON Isabel, PASQUALINI Christiane, NEPOMNASCHY Irene.

ILEX-CONICET. Instituto de Investigaciones Hematológicas. Academia Nacional de Medicina

Los ratones nact (n/n), deficientes en L-catepsina, presentan una disminución en el número de linfocitos CD4+ tímicos. Por otra parte demostramos la existencia de aumentos en el número de linfocitos T (LT) CD8+ en los ganglios de estos mutantes sin observarse alteraciones en la proliferación de dichos LT. Investigamos otros mecanismos que podrían determinar el incremento en el número de LT CD8+ en los ganglios de los ratones n/n. En experimentos de tráfico celular se inocularon por vía iv 10×10^6 linfocitos CD8+ (a)n/n o (b)n/+ marcados con CFSE. El porcentaje de células CD8+CFSE+ recuperado en los ganglios fue mayor cuando las células provenían de ratones n/n: (a) 61 ± 2 vs (b) 21 ± 1 en huéspedes n/+ ($p < 0.001$) y (a) 47 ± 2 vs (b) 25 ± 1 en huéspedes n/n ($p < 0.001$) (media \pm DS, n=4). Para estudiar la exportación tímica se inoculó FITC en el timo de ratones n/n y n/+, considerándose emigrantes tímicos recientes (RTE) a las células FITC+ recupera-

das en la periferia a las 16hs. La exportación tímica calculada como la relación de RTE totales/timocitos CD8+ (Le Campion A et al, J Immunol 2002,168:1664) fue de 0.046 ± 0.024 para n/n vs 0.008 ± 0.002 para n/+ ($p < 0.05$). Se registraron además aumentos en el número de RTE CD8+ que llegaron a los ganglios n/n diariamente: $(12 \pm 5) \times 10^4$ en n/n vs $(3 \pm 2) \times 10^4$ en n/+ (media \pm DS, n=3, $p < 0.05$). Los resultados indican que el aumento en el número de LT CD8+ en los ganglios linfáticos correlaciona con aumentos en la exportación tímica y en el tráfico celular.

79. (1066) SUSCEPTIBILIDAD DE RATONES KNOCKOUT EN DIFERENTES CITOQUINAS A LA INFECCIÓN ORAL CON YERSINIA ENTEROCOLITICA O:8. DI GENARO María, STEFANINI DE GUZMAN Ana, AUTENRIETH Ingo.

¹Area Microbiología, Universidad Nacional de San Luis, ²Universitätsklinikum Tübingen, Alemania

Ratones C57BL/6 son resistentes a la infección por Yersinia enterocolitica. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las citoquinas que cumplen un rol crucial en la inmunidad frente a Yersinia. Ratones C57BL/6 normales y knockout en el receptor p55 de TNF-a (TNFRp55-/-), TNFRp55 y TNFRp75 (TNFRp55-p75-/-), IL-12p40 (IL-12p40-/-), IL-18 (IL-18-/-) o IL-4 (IL-4-/-) fueron infectados por vía oral con 1.5×10^8 UFC/ratón. El número de bacteria en bazo fue determinado el día 5 p.i. Niveles de IFN-g, TNF-a e IL-10 fueron medidos por ELISA en sobrenadantes de cultivo de esplenocitos de ratones infectados. Ratones TNFRp55-/-, IL-12p40-/- e IL-18-/- fueron susceptibles a la infección con Yersinia ($p < 0.05$). No se observaron diferencias entre ratones IL-4-/- y normales, ni entre TNFRp55-/- y TNFRp55-p75-/-. Respuesta específica de IFN-g fue detectada en ratones normales y TNFRp55-/- ($p < 0.022$ y $p < 0.014$, respectivamente), y de TNF-a en ratones normales, TNFRp55-/-, e IL-12p40-/- ($p < 0.007$, $p < 0.00001$, $p < 0.0002$, respectivamente). Niveles de IL-10 fueron significativamente superiores en ratones TNFRp55-/- ($p < 0.002$). Puede concluirse que TNFRp55, IL-12 e IL-18 son esenciales en el control de Y. enterocolitica. La producción de IFN-g no necesariamente correlaciona con la eliminación de la infección en ratones TNFRp55-/-. Por lo cual la resistencia depende tanto del incremento de los niveles de IFN-g como de la disminución de IL-10.

80. (1152) ESTUDIO DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA CAPACIDAD PROTECTIVA DE BACTERIAS LACTICAS (BL) CONTRA UNA INFECCION CON SALMONELLA TYPHIMURIUM. GOBBATO NADIA, CASTILLO Ana Fernanda, VALDÉZ Juan Carlos, BIBAS BONET María Eugenia, PERDIGÓN Gabriela.

Cátedra de Inmunología, Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT CERELA - CONICET

La administración oral con L casei(Lc), L bulgaricus(Lb) y S thermophilus(St) protege contra una infección con Salmonella typhimurium(Styp) en ratones. Obj:Determinar los mecanismos inductores (inhibición de apoptosis, actividad microbicida, inhibición competitiva) por dichas BL para ejercer su efecto preventivo en una infección con Styp. MyM:Ratones Balb/c se alimentaron por 2, 5 y 7 días consecutivos con las BL. Luego se infectaron con Styp(10^7) cel). A los 5 y 7 d postdesafío se midió: Ensayos de colonización. IgA específica por ELISA. Actividad Microbicida. Índice Fagocítico. Apoptosis. Inhibición Competitiva in vivo por IFI doble tinción (Rodamina-Fluoresceína). R:Con las 3 BL ensayadas la colonización fue menor (2 veces) que el control no alimentado. (UFC/ml: 1.10×10^5). Los niveles de IgA-S para Lc al 5º d post-desafío aumentaron 2 veces con respecto al control (DO 493 nm: 0.312 ± 0.082). Lb y St fueron similares al control. La Actividad Microbicida fue significativamente menor para las 3 BL (UFC/ml= control: 1.10×10^4) y BL: 1.10×10^3) y el Índice Fagocítico fue similar al control (IF=4). Lc no inhibe la apoptosis inducida in vivo e in vitro por Styp, pero sí Lb y St. Las BL no compiten con Styp por los sitios de adhesión al intestino. Lc protegería por aumento de IgA-S y aumento de Actividad Microbicida. Lb y St lo harían inhibiendo la apoptosis de las células infectadas y por aumento de la Actividad Microbicida. La protección no estaría mediada por Inhibición Competitiva.

81. (1157) LAS ETAPAS TEMPRANAS DE LA MADURACIÓN INTRA-TÍMICA ESTÁN ALTERADAS EN LAS RATAS QUE SE RECUPERAN DE UNA DESNUTRICIÓN DURANTE LA LACTANCIA. FELEDI CATALINA, GOLDMAN Hebe, FRANCO Liliana, MASSOUH Ernesto.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA Lab. Inmunoquímica, Dto. Química Biológica,

En suspensiones totales de timos de ratas desde los 21 de edad y durante las primeras semana de renutrición, se estudió la expresión de Thy-1, CD3 y CD44 por citometría de flujo, considerando el tamaño, complejidad celular, e intensidad de fluorescencia. Se observó a) Menor número de precursores subcapsulares, células grandes con alta expresión de Thy-1+; (#N28=28 ±11 vs #D28=7.1±2.5, p=0.034. Esta población no se recupera hasta los 120 días. Sin embargo, la capacidad proliferativa, como blastos CD4-CD8-(DN) CD3-, estaría conservada: blCD3-:(#N28=11.2±2.6 vs #D28=5.6±4.9, p=0.34 , y #N50=28.5±14 vs #D50=23.3±4.6, p=0.76); b)DN: (#N21=1.25±0.22 vs #D21=0.59±0.39, p=0.81 y #N50=7.65±6.4 vs #D50=6.5±5, p=0.77) b) Dentro del estadio Pro-T, DN CD44+, se observa una dificultad (no significativamente estadísticamente) en la maduración a células pequeñas(sm) de los blastos(bl) que expresan CD44+ (#44+bl N28=7.74 a #44+smN28= 52.7 vs #44+blD28=4.5 a #44+smD28=15, p=NS KruskalWallis ANOVA). c) El inicio de la expresión del TCR durante el estadio Pre-T, como CD3+ débil, es normal al destete, (#N21=0.76±0.29 vs #D21=0.32±0.17, p=0.7), pero no puede mantenerse durante la renutrición: #N28=3.56±3 vs #D28=0.53±0.18, p=0.04). Los N alcanzan el máximo a los 50 días de edad, pero en en los D culmina a los 70 días. Dada la disminución de los precursores de los DP, concluimos que el timo desnutrido no puede afrontar la regeneración sin caer en un desbalance celular que podrá afectar su función.

82. (1165) LA SUBUNIDAD B DE LA TOXINA SHIGA TIPO 2 MODULA EL SISTEMA INMUNE DEL COLON HUMANO Y DE RATA. ZOTTA ELSA, PISTONE CREYDT Virginia, IBARRA Cristina.

Laboratorio de Fisiopatogenia, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA

El Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) es una entidad clínica secundaria a la infección con *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) productora de toxina Shiga tipo 1 y/o 2 (Stx1, Stx2). Recientes evidencias sugieren que la subunidad B de Stx2 (Stx2B) tiene efecto biológico per se, pudiendo participar en los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la diarrea observada en niños infectados con EHEC. En resultados preliminares se observó un aflujo linfocitario de las placas de Peyer localizados en la mucosa y submucosa colónica humana cuando se incubó una hora a 37°C con sobrenadantes de cultivos de *E. coli* recombinante que expresan Stx2B. Estos efectos no fueron observados en presencia de Stx2. El objetivo de nuestro trabajo fue caracterizar la población de linfocitos B y T en el infiltrado folicular durante la respuesta inmune a Stx2B y estudiar su modulación bajo distintas condiciones experimentales. Se observó que Stx2B induce la activación de linfocitos T en ausencia pero no en presencia de cicloheximida (100µg/ml) lo que sugiere que la ausencia de respuesta inmune con Stx2 se debería a la acción inhibitoria de la subunidad A sobre la síntesis de proteínas. La misma respuesta fue observada en colon de ratas Sprague Dawley inyectadas con Stx2B, luego de una incubación de 72 hs. Este efecto producido por la interacción de la subunidad B de Stx2 en las placas de Peyer podría iniciar y modular la respuesta inmune de la mucosa intestinal durante la infección por EHEC.

INMUNOLOGÍA III

83. (428) PARTICIPACIÓN DE PKA Y CREB EN LA ACCIÓN DUAL DEL AMPc SOBRE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR ACTIVACIÓN T Y GLUCOCORTICOIDES. REFOJO Damián, LIBERMAN Ana C, ARZT Eduardo.

Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, FCEN, UBA, Arg., CONICET

Estudiamos los mecanismos involucrados en la acción dual del AMPc sobre la apoptosis en células T inducida por anticuerpos anti-CD3 (activación T) y glucocorticoides (GC). El AMPc inhibe la apoptosis por anti-CD3 (82±0.8 %; p<0,01) y la actividad del factor pro-apoptótico NF-KB. Usando oligos señuelo que pegan CREB (oligos CRE) demostramos que la acción del AMPc es mediada por este factor y también por PKA ya que la acción del AMPc es revertida por el inhibidor específico H89. Se sabe que FasL media la apoptosis inducida por la activación T, pero a pesar de inhibir la expresión del ARNm de FasL, el AMPc potencia el efecto inductor del anti-CD3 sobre el promotor de FasL sugiriendo un mecanismo regulatorio postranscripcional. El AMPc potencia la apoptosis inducida por GC (50±2.1%; p<0,01) así como su acción sobre genes reporteros de la actividad GRE (GRE-Luc). El efecto del AMPc es independiente de CREB dado que oligos CRE no bloquean su efecto sobre la apoptosis inducida por GC y la expresión de una forma dominante negativa de CREB no bloquea el efecto del AMPc sobre la actividad GRE-Luc inducida por GC, mientras si lo hace una forma dominante negativa de la PKA. La señalización vía PKA-CREB media los efectos del AMPc sobre la apoptosis inducida por anti-CD3 mientras que la acción del AMPc sobre la apoptosis inducida por GC es dependiente de PKA-independiente de CREB y actúa sobre la actividad transcripcional del receptor de glucocorticoides.

84. (429) INTERACCIÓN ENTRE GLUCOCORTICOIDES (GC) Y CITOQUINAS EN LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN (FT) INVOLUCRADOS EN EL FENOTIPO DEL LINFOCITO T HELPER (TH). LIBERMAN ANA, REFOJO Damian, ECHENIQUE Carlos, ARZT Eduardo.

Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular FCEN, UBA, Arg., CONICET

Estudiamos la regulación por GC de los FT T-bet y GATA-3 claves para la diferenciación Th1 y Th2 respectivamente. Previamente hemos demostrado que los GC inhiben directamente la expresión de mRNA de GATA-3 y T-bet y que esta inhibición es revertida por las citoquinas diferenciadoras IL-4 (Th1) e IL-12 (Th2) respectivamente. Para poder develar los mecanismos moleculares subyacentes realizamos transfecciones transientes en las líneas celulares EL4 y Jurkat con los promotores de IL-5 (Th2) y de INF-g (Th1) río arriba del gen de luciferasa (LUC). Observamos que GATA-3 (vector de expresión) estimula la actividad del promotor de IL-5 y T-bet la actividad del promotor de INF-g. El tratamiento con GC inhibe la actividad de los vectores de expresión GATA-3 y T-bet sobre IL-5-LUC e INF-g-LUC respectivamente, y cuanto mayor es la proporción de T-bet, mas evidente es el efecto inhibitorio de los GC. Los GC tambien inhiben la actividad estimulada por PMA+Ionomicina (inhibición de GATA-3 y T-bet endógenos) y la actividad transcripcional de GATA-3 sobre los elementos respondedores a GATA. La inhibición de la actividad del promotor de IL-5 por GC involucra a GATA-3 pero participan otros factores ya que la inhibición al sobreexpresar GATA-3 no es total. A su vez T-bet es un factor de transcripción mas sensible a la inhibición por GC, por lo cual el tratamiento crónico con GC inhibe ambos Th1/Th2 pero podría favorecer una posterior estimulación Th2.

85. (497) EXPRESION DE BCL2,HLA DR Y CD3 DE INFILTRADO LINFOCITARIO Y CELULAS INTERDIGITALES POR ACCION DE LA PILOCARPINA EN PACIENTES CON SINDROME DE SJÖGREN PRIMARIO, EVIDENCIANDO MEJORA HISTOPATOLOGICA. FOURCADE Mariano Gastón, ROMANINI E.F, MAMANI M, MONACO A, MARTÍNEZ L, CATALAN PELLET A.C, NAHMOD V.E, SORMANI DE FONSECA M.I.

Rumatología-Hospital Rivadavia, Histopatología- Inmunología- Academia Nac. de Medicina. Lab. de Sustancias Vasoactivas-A Lanari UBA.

El SS es una exocrinopatía autoinmune que se caracteriza por la presencia de infiltrado mononuclear de glándulas salivales y lagrimales. Numerosos investigadores han demostrado la expresión de BCL2, como también la producción de ACh autocrina y paracrina por LT-B. Existe una relación entre actividad de la enfermedad SSp y ex-

presión de FAS Y FAS-L apoptóticos de Ly de estos pacientes. Objetivo: Estudiar el efecto de la pilocarpina sobre la expresión de BCL2, su relación con HLA DR-CD3 y flujo salival. Materiales y métodos: 10 pacientes SSp según crit Europ. sexo fem, edad prom 58 años. Tratamiento pilocarpina 15mg/día durante 2 meses. Biopsias de glándulas salivales menores, método de detección inmunohistoquímica-avidina-biotina-peroxidasa-antiperoxidasa, ATc mono-clonales CD3-DR-BCL2. Resultados: La expresión de BCL2 se mantuvo en grado 3 en LT. En n=7 la expresión HLA DR, CD3 puso de manifiesto un descenso de células interdigitales y LT, observándose cambios histológicos en las biopsias glandulares, con variantes registradas de pretratamiento grado 3 a postrat- grado 1. El CD3 en n=7 descendió de grado 3 a 1. Conclusiones: Posiblemente el sistema colinérgico module la actividad antiapoptótica de bcl2 a través de su regulador BAX y la expresión de CD3-HLA DR, esto último podría implicar un mecanismo de atenuación de presentación de autoantígenos por CPA y menor activación de LT, permitiendo a las células acinotubulares recuperar y aumentar su actividad secretoria salival.

- 86. (552) CORTICOSTERONA PLASMÁTICA Y SU RELACION CON LA DISTRIBUCION LEUCOCITARIA EN RATAS MACHO ADULTAS ESTRESADAS PRENATALMANTE.** MAYER NORA, RODRIGUEZ Nancy, GRECO¹ Cecilia, BERTUZZI Mabel, FERNANDEZ Cristian, FERNANDEZ Luciana, ESCUDERO Carolina, VIVAS² Adriana, GAUNA Hector.

Departamento de Biología Molecular. Universidad Nacional de Río Cuarto, Departamento de Microbiología e Inmunología¹, Departamento de Anatomía Animal²

En nuestro laboratorio validamos un modelo de estrés prenatal para determinar cambios en los ejes Hipotálamo Hipófiso Adrenal (HHA) y Gonadal (HHG) en ratas macho adultas. Dado que el estrés también modifica la respuesta inmunológica, el objetivo de este trabajo fue investigar el efecto de estrés crónico por inmovilización (IMO), en ratas preñadas, sobre la actividad del eje HHA de las crías adultas y su relación con la distribución de leucocitos de la sangre en condiciones basales y de postestrés. Se utilizaron ratas Wistar macho de 90 días de edad, hijos de madres sometidas a IMO crónico durante la preñez (EP) y de madres no estresadas (C). Se determinó la corticosterona (COR) plasmática por RIA; leucocitos totales, linfocitos, neutrófilos y la relación neutrófilo/linfocito (N/L), en condiciones basales y de postestrés. Los resultados obtenidos son: COR ug/dl en EP (basal 4,13 ± 0,40; IMO 18,28 ± 1,40) en C (basal 0,52 ± 0,16 IMO 34,59 ± 3,31) y N/L en EP (basal 0,29 ± 0,02 IMO 1,05 ± 0,08) en C (Basal 0,35 ± 0,03 IMO 1,52 ± 0,16) p < 0,05. Los cambios en los parámetros leuco-citarios podrían ser consecuencia de modificaciones en los niveles de COR plasmática debidas al EP. El EP podría estar alterando la distribución periférica de linfocitos y neutrófilos cuando el animal es expuesto a estrés agudo postnatal. Estos resultados podrían representar una diferencia en la performance de vigilancia así como también de las funciones efectoras del sistema inmunológico entre EP y C.

- 87. (584) INMUNOBIOLOGÍA DE LOS MACRÓFAGOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO.** LISCOVSKY MIRIAM, ALIGNANI Diego, MALETTTO Belkys, MONTES Carolina, PISTORESI Cristina.

Departamento de Bioquímica Clínica-Facultad de Ciencias Químicas-Universidad Nacional de Córdoba

Se ha demostrado que las células presentadoras de antígenos tienen un rol fundamental en la polarización de la respuesta inmune hacia Th1 o Th2. Esto nos indujo a estudiar la contribución de los macrófagos (M) en el perfil Th2 que caracteriza a nuestro modelo experimental de envejecimiento. Se trabajó con células peritoneales (CP) de ratones BALB/c normales de 18 (18m) y 3 meses (3m) de edad. Las CP, enriquecidas en M por adherencia, fueron cultivadas con distintos estímulos. La liberación de óxido nítrico (NO) en cultivos estimulados con IFNg+LPS (18m:10±2uM, 3m: 20±3uM) y la actividad de arginasa en cultivos con IL4 (18m:3±1uMoles, 3m:34±3uMoles urea/mg proteína) permitió observar que la respuesta de los M de ratones de 18m fue menor (p<0.05) en ambos casos. Con el objeto de identificar causas de este comportamiento, se evaluó por citometría de flujo el estado

basal de los M peritoneales de ratones de 18m comparativamente con los de 3m. No se encontraron diferencias en la expresión de marcadores de activación (B7.2, RgFc y MHC II). Sin embargo, en CP de 18m se observó una disminución del porcentaje de M-F4/80hi (M maduros) y aumento de linfocitos CD19+ (principalmente IgM hi, Mac1+). Concluimos que la diferencia observada en relación al equilibrio poblacional del peritoneo (disminución de M-F4/80hi y aumento de linfocitos CD19+ IgM hi, Mac1+) podría ser una de las causas involucrada en la menor respuesta de los M de animales envejecidos.

- 88. (609) RESPUESTA INMUNE INDUCIDA EN ANIMALES ENVEJECIDOS POR ADMINISTRACIÓN DE OVA/CPG-ODN POR VÍA ORAL.** ALIGNANI DIEGO, LISCOVSKY Miriam, MALETTTO Belkys, RÓPOLO Andrea, PISTORESI Cristina.

Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

En trabajos previos observamos que la inmunización s.c. con OVA+CpG ODN indujo una respuesta en ratones de 18 meses (18m) similar a la inducida en los de 3 meses (3m) de edad. Con el objeto de estudiar si CpG por vía oral estimula al sistema inmune envejecido en forma similar al joven, ratones BALB/c de 3m y 18m se inmunizaron vía oral con OVA+CpG. En ratones de 18m encontramos menores niveles de Acs anti-OVA en lavado intestinal (IgA) y suero (IgG) respecto a los de 3m (p<0.05). El índice de proliferación fue similar en ambos grupos: Placas de Peyer (PP): 3m: 18±4, 18m: 16±4; ganglios mesentéricos (GM): 3m: 7±2, 18m: 6±2; bazo 3m: 6±1, 18m: 5±1. El perfil de citocinas observado fue Th1 (INFg>IL5), pero en 18m se encontraron menores valores de INFg (18m: 5226pg/ml, 3m: 30563pg/ml) y de GM-CSF (18m: 587pg/ml, 3m: 1092pg/ml). Dado que CpG estimula la hemopoyesis, analizamos cambios poblacionales en estos animales. Por citometría de flujo solo se encontró variación en los Li CD19+. La inmunización indujo un aumento en Li CD19+ en PP, GM y cavidad peritoneal, este aumento fue menor en ratones de 18m que en 3m. Podemos concluir que CpG por vía oral induce en animales envejecidos una respuesta inmune Th1, sin embargo los niveles de INFg y la respuesta de Acs son menores que en los animales jóvenes. Considerando que GM-CSF no aumenta en ratones inmunes de 18m como lo hace en 3m, es posible que este factor influya en el desarrollo de una menor respuesta Th1 en animales envejecidos.

- 89. (650) ACTIVIDAD HELMINTOCITOTÓXICA DE CELULAS DE RATAS PREÑADAS CONTRA TRICHINELLA SPIRALIS. ROL DE LA PROGESTERONA.** NUÑEZ GUILLERMO, GENTILE Teresa, COSTANTINO Susana, SARCHI Ines, VENTURIELLO Stella.

Cátedra de Inmunología, Cátedra de Matemática, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Las ratas preñadas (RP) presentan menor susceptibilidad a la infección por *Trichinella spiralis*, siendo la larva recién nacida (LRN) el blanco del mecanismo efector. El suero de RP no infectadas induce la muerte de la LRN en presencia de leucocitos de exudado peritoneal (LEP) de ratas normales. El objetivo de este trabajo fue analizar la contribución de las LEP de RP y el rol de la progesterona (P4) en el mecanismo de destrucción parasitaria. El efecto in vitro de los LEP de RP y de ratas vírgenes (RV) se evaluó en presencia o ausencia de un suero citotóxico. El rol de la P4 en el ensayo de citotoxicidad se analizó utilizando LEP de ratas normales preincubadas con el antagonista mepiristona (RU486). Los estudios in vivo se realizaron con ratas ovariectomizadas tratadas con P4 a las que se infectó con larvas musculares (LM) determinándose la carga parasitaria al día 30 post-infección. Los resultados mostraron que: -Las LEP de RP mediaron la muerte de la LRN a las 4 h de incubación y en ausencia de anticuerpo (RP: 28,5±8,1% vs RV: 6,0±8,5%). -La citotoxicidad mediada por los sueros de RP fue inhibida en presencia de RU486 (LEP-RU: 0,9±0,8% vs LEP: 15,9±2,4%). -La carga parasitaria de las ratas ovariectomizadas tratadas con P4 fue menor a la de las ratas control (986±490 LM/g vs 1679±367 LM/g). Los resultados sugieren que el incremento de la citotoxicidad contra la LRN en la preñez se debería a un fenómeno de activación celular siendo P4 uno de los factores responsables.

- 90. (669) MODIFICACIONES EN LOS NIVELES SÉRICOS DE CITOCINAS PRO Y ANTI-INFLAMATORIAS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDEA (AR) DE DISTINTO TIEMPO DE EVOLUCIÓN (TE) DE LA ENFERMEDAD.** RONDELLI FLAVIA, GOÑI Mario, PONS ESTEL Bernardo, GENTILETTI Alberto, BOTTASSO Oscar, BAY María.

Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Previamente demostramos que los niveles de interferón-gamma (IFN), interleucina-10 (IL-10) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF) estaban disminuidos en cultivos de células periféricas mononucleares de pacientes AR estimuladas con antígenos micobacterianos respecto de los controles sanos (Co), no así los de factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) que estaban aumentados. Se propuso investigar en pacientes con AR (no inmunosuprimidos, n=29) y Co (n=29) los niveles séricos de dichas citocinas (ELISA, R&D) y nitritos (NO, μ M), y su eventual asociación con el TE (< 24 y >24 meses) e índice articular (IA) de la AR. IFN (pg/ml, media \pm es) AR: 45.5 \pm 16.7, Co: 8.56 \pm 0.56, p<0.0001; IL-10 alta sensibilidad (pg/ml) AR: 4.6 \pm 1.4, Co: 1.3 \pm 0.26, p<0.008; TGF- β (ng/ml) AR: 426.2 \pm 16.2, Co: 376.6 \pm 13, p<0.02; TNF y NO ns. La comparación para cada mediador en los AR entre <24 y >24 no arrojó diferencias, y no se observaron correlaciones entre mediadores e IA. Al correlacionar por TE, NO < 24 r = -0.05, n: 17, ns; >24: r = 0.84, n: 9, p<0.01. En el subgrupo < 24 hubo asociación entre IFN e IL-10 (r=0.81, n: 17, p<0.01), no así en los >24 r=0.35, n: 8, ns. El perfil de citocinas séricas no aparece polarizado y presenta una relación distinta a la obtenida in vitro. La asociación entre IFN-gamma e IL-10 en la etapa temprana de la AR indicaría la presencia de mecanismos reguladores que luego se pierden como lo evidenciaría la relación entre NO y antigüedad mayor a 24 meses.

- 91. (688) EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A ESTRÉS CRÓNICO SOBRE LAS SEÑALES INTRACELULARES TEMPRANAS QUE PARTICIPAN EN LA PROLIFERACIÓN DE LINFOCITOS T INDUCIDA POR MITOGENOS.** SILBERMAN DAFNE MAGALÍ, GENARO Ana María.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

La proliferación de linfocitos T (LT) es mediada por una compleja serie de eventos intracelulares. Las señales tempranas gatilladas tras estimulación involucran la concentración de calcio intracelular y la actividad de dos proteínas quinasas (PK) con funciones opuestas: PKC y PKA. En un trabajo previo encontramos que la respuesta proliferativa de LT inducida por mitógenos está disminuida tras exposición a estrés crónico. A fin de analizar la participación de las señales tempranas en esta alteración inmunológica, evaluamos el incremento de calcio intracelular, la actividad de PKC y los niveles de AMPcíclico tras estimulación con concanavalina A en LT de ratones normales (N) y expuestos a estrés crónico (E). Encontramos que la liberación de calcio intracelular fue significativamente menor en LTE respecto de LTN ([Ca(2+)](nM), X \pm ES, basal N: 68 \pm 5, E: 72 \pm 6; Con A N: 224 \pm 19, E: 154 \pm 19, n=6). Asimismo observamos una menor translocación de PKC tras estimulación (membrana/citosol, basal N: 12/88, E: 17/83; ConA N: 63/37, E: 30/70, n=6). Con respecto a los niveles de AMPc la disminución observada tras estimulación mitogénica fue menor en los linfocitos de E (%disminución, N: 59 \pm 8% , E:38 \pm 6, n=6). Concluimos que las señales tempranas que participan en la proliferación celular de LT están severamente influenciadas por el estrés crónico llevando a una menor reactividad inmunológica, que podría estar implicada en el déficit inmunitario reportado en individuos bajo estrés.

- 92. (706) IDENTIFICACIÓN DE LIPOFILINA C EN TEJIDO PROSTÁTICO HUMANO NORMAL (PHN) Y PATOLÓGICO.** PIATTI VERÓNICA, RIVERO Virginia, MACCIONI Mariana.

Inmunología. Dpto. Bqca. Clínica. Fac. Cs. Qcas. Universidad Nacional de Córdoba.

El estudio de las proteínas de la familia de la uteroglobinas genera gran interés debido a su conocido carácter antiinflamatorio. Dentro de ellas, las más recientemente identificadas son las lipofilinas humanas (LA, LB y LC), péptidos homólogos a

prostataína de rata, cuya función inmunosupresora ha sido descrita en nuestro grupo. LA, LB y LC han sido aisladas sólo de lágrimas (LA y LC) y de mama (LB). A pesar de su alta concentración en lágrimas y su sobreexpresión en neoplasias mamarias, su rol fisiológico no ha sido totalmente dilucidado. Nuestro objetivo fue conocer si las lipofilinas se expresan en próstata normal y/o tejido patológico. Utilizando antisueros específicos anti-LA, LB y LC, la presencia de las mismas se evaluó por ELISA e inmunotransferencia. Por ELISA, se demostró la presencia de LC en PHN (índice de unión: 3.02 \pm 0.46), sin poder detectar LA y LB. Por inmunotransferencia de PHN revelada con anti LC, se detectó una banda de aprox. 11 kDa, cuyo tamaño coincide con el descrito en literatura. La expresión de LC, se confirmó también por ensayos de RT-PCR usando primers específicos. LC también se detectó por ELISA (i: 3.82 \pm 0.71) e inmunotransferencias en tres muestras diferentes de adenoma prostático (AP). Por FPLC se logró obtener una fracción enriquecida de LC para posterior estudios de su rol in vitro. Hemos demostrado la presencia de LC en PHN y AP. Debido al rol inmunosupresor de su homóloga prostataína, futuros ensayos evaluarán esta posibilidad in vitro.

- 93. (741) MECANISMOS MOLECULARES INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN IN VITRO DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL POR ESTROGENOS Y PROGESTERONA.** ALVAREZ IRENE, BEROD Luciana, CANELLADA Andrea, MARGNI Ricardo.

IDEHU-Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Recientemente reportamos que estrógenos (E2) y progesterona (Pg) modulan de forma dosis dependiente la síntesis de anticuerpos asimétricos por un hibridoma murino. También se ha demostrado que IL-6 y PIBF-progesterone induced blocking factor- estimulan la síntesis de estos anticuerpos in vitro. Aquí analizamos si E2 y Pg pueden modular la vía de transducción de señales del receptor de IL-6 (IL-6R) en células de hibridoma y si las mismas son capaces de sintetizar PIBF en respuesta a Pg. Se realizaron tres experimentos en los cuales un hibridoma B se cultivó con distintas concentraciones de E2 y Pg durante 48 h y luego se midió PIBF en los extractos celulares por western blot (WB). Para investigar la transducción de señales de IL-6R, el hibridoma se incubó por 48 h con y sin 10 ng/mL de IL-6, se descartó el sobrenadante de cultivo y luego se incubó por 30 minutos con medio fresco adicionado de 20 ng/mL de IL-6. La expresión de las moléculas gp130 y JAK-1 fue medida por WB en los extractos celulares. La máxima expresión de PIBF por el hibridoma se observó con Pg 10((-10)) M (p<0.05). El análisis de transducción de señales de IL-6R mostró que IL-6 incrementó la expresión de JAK-1 y gp130, sin embargo 10((-6)) M de E2 y Pg disminuyeron la expresión de gp130 (p<0.05) mientras que JAK-1 no fue significativamente afectada. Estos datos muestran dos mecanismos moleculares que estarían involucrados en la modulación de la síntesis de anticuerpos asimétricos ejercida por E2 y Pg.

- 94. (774) LOS GLUCOCORTICOIDES ENDÓGENOS (GC) DISMINUYEN LA RESPUESTA INFLAMATORIA DEL NEUTRÓFILO (PMN) EN UN MODELO MURINO DE SÍNDROME URÉMICO HEMO-LÍTICO (SUH).** GÓMEZ Sonia, FERNÁNDEZ Gabriela C, RUBEL Carolina J, ALVES ROSA Fernanda, DRAN Graciela I, ISTURIZ Martín A, PALERMO Marina S.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

El síndrome urémico hemolítico (SUH) es causado por Escherichia coli productora de toxinas Shiga (Stx). Evidencias clínicas y experimentales sugieren la participación de los PMN en su patogénesis. Por el contrario nosotros demostramos en el modelo murino de SUH por inoculación e.v. de Stx2 que los GC endógenos disminuyen la toxicidad de la Stx2. Considerando que la Stx2 induce la expresión de su receptor de GC (GR) en PMN, nos propusimos evaluar la función de los PMN en dicho modelo, en ausencia de los efectos de los GC, por el pretratamiento con el antagonista del GR: Ru486. Los resultados se expresan como % de aumento con respecto a ratones inoculados con Sc salina. El tratamiento con Stx2 disminuyó la fagocitosis de zimosán-FITC por PMN solo a las

24 hs post Stx2, y el Ru486 potenció esta inhibición: Stx= -18±3; Stx+Ru486= -29±3.5, $p<0.03$, $n=8$. Contrariamente, la Stx2 aumentó la generación de intermediarios reactivos del oxígeno, y el Ru486 potenció este aumento a todos los tiempos post-Stx2: Stx vs Stx+Ru486: 24h: 48.4±8 vs 109.7± 28, $p<0.003$; 72h: 64.8±12 vs. 85±14 $p<0.02$, $n=10$. Además la Stx2 induce la apoptosis de PMN en forma significativa a las 72 hs, el Ru486 también potencia este efecto: Stx: 26±9; Stx+Ru486: 62±13, $p<0.05$, $n=8$. Estos resultados indican que los GC endógenos disminuyen la capacidad inflamatoria de los PMN inducida in vivo por la Stx2, en el modelo murino de SUH.

95. (804) **EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA INFLAMATORIA DE MACRÓFAGOS-1 β (MIP-1 β) EN UN MODELO DE ORQUITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL.** GUAZZONE VANESA, RIVAL CLAUDIA, DENDUCHIS Berta, LUSTIG Livia.

Ctro. de Investig. en Reprod. Fac. Med. Universidad de Buenos Aires

Las quemoquinas son proteínas que regulan la migración y reclutamiento de leucocitos. MIP-1 β , miembro de la familia C-C de quemoquinas, es un quimioattractante para monocitos y linfocitos T. La orquitis autoinmune experimental (OAE), inducida en la rata por inmunización activa con homogenado testicular mas adyuvantes, se caracteriza por un infiltrado de linfomonocitos en el intersticio testicular. El objetivo del trabajo es el estudio de MIP-1 β en dicho modelo. Mediante la técnica de ELISA se cuantificó la expresión de MIP-1 β en suero, medio condicionado de macrófagos testiculares (MCM) y fluido testicular (F) de ratas controles (C) y experimentales (E). Los datos demuestran que existe una mayor expresión de dicha quemoquina en el MCM y F de los animales E. MCM (E vs C): 117,3±32.1 vs 1225,8±155,4 ($p<0,05$) y F: 951,3±126,2 vs 3070,3±1604 (pg/ml) ($p<0,05$). Por técnicas de inmunoperoxidasa se detectó MIP-1 β y su receptor (CCR-5) en cortes de testículo obtenidos en crióstato. MIP-1 β se observó en la zona perivascular y CCR-5 en los macrófagos testiculares. Estos resultados sugieren que MIP-1 β junto con la proteína quimioattractante de monocitos-1 (MCP-1), previamente estudiada, estarían involucradas en la patogenia de la OAE facilitando la migración y extravasación celular en el testículo.

96. (903) **ESTUDIO DE LOS MACRÓFAGOS TESTICULARES Y EXPRESIÓN DE INTERLEUQUINA-6 (IL-6) EN UN MODELO DE ORQUITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL (OAE).** RIVAL CLAUDIA, THEAS Susana, LUSTIG Livia.

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Previamente hemos descripto, en la OAE, un aumento de IL-6 en el medio condicionado de macrófagos y del número de células germinales que expresan el receptor de la IL-6. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la población de macrófagos testiculares que sintetiza IL-6 y determinar si dicha citoquina está involucrada en la apoptosis de las células germinales. La OAE se indujo en ratas por inmunización activa con antígenos espermáticos y adyuvantes (grupo E). Por inmunohistoquímica utilizando anticuerpos ED1 y ED2, se identificaron en el testículo, dos poblaciones de macrófagos, aquellos que llegan por circulación y los residentes, respectivamente. Se observó un incremento en el número de macrófagos ED1(++) y ED2(++) en las ratas con OAE respecto de ratas normales (N) y controles (C, sólo inyectadas con adyuvante). Nro de macrófagos $\times 10^6$ (6); ED1: N: 4.40±0.59; C: 10.28±0.65*; E: 14.23±1.29*; ED2: N: 7.32±0.47; C: 11.21±0.57*; E: 17.36±1.42*, * $p<0.05$ vs N y C). El 100% de los macrófagos que expresan IL-6 son ED1(++). Por experimentos in vitro se observó una disminución significativa de la viabilidad celular y apoptosis de células germinales de ratas N incubadas con IL-6. Los resultados sugieren que en el testículo de ratas con OAE hay un aumento de ambas poblaciones de macrófagos siendo los ED1(++) los principales responsables de la secreción de IL-6. Por otra parte, esta citoquina podría estar involucrada en el daño del epitelio germinal.

97. (904) **LA ENCEFALOMIELITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL (EAE) AGUDA ES DIFERENCIALMENTE REGULADA POR SUPRESIÓN DE ESTEROIDES SEXUALES.** MACCIO DANIELA RITA, DITAMO Yanina, DEGANO Alicia, ROTH German.

CIQUIBIC-CONICET-Universidad Nacional de Cordoba Departamento de Química Biológica

Se estudió el desarrollo de la EAE luego de la supresión por castración quirúrgica de los esteroides sexuales, previo a la inducción de la EAE con mielina en AFC. Los grupos analizados fueron: machos intactos (I/EAE), castrados (C/EAE), sham con solo una incisión escrotal (S/EAE) y hembras (H/EAE). S/EAE mostró los síntomas clínicos de la EAE aguda a los 11 días post-inducción (dpi) y luego se recuperaron, alcanzando en 5-6 días un estado similar a los controles. C/EAE presentó un comienzo de la enfermedad 3-4 días más tarde que S/EAE con un lento período de recuperación sin alcanzar aún a los 35 dpi el estado normal. Los grupos I/EAE y H/EAE se comportaron similar a S/EAE. Además se comparó la respuesta inmune contra la proteína básica de mielina (PBM). C/EAE presentó menor respuesta de hipersensibilidad retardada que S/EAE. Asimismo S/EAE mostró una respuesta de células T anti-PBM a los 14 dpi mientras que en C/EAE esta respuesta fue observada a 14 y 35 dpi. Los anticuerpos anti-PBM a 14 dpi en C/EAE mostraron mayor diversidad de reacción contra diferentes péptidos de PBM distinto a S/EAE cuyos anticuerpos fueron contra un solo péptido. A 35 dpi ambos grupos amplificaron el reconocimiento hacia los cuatro péptidos analizados. Los títulos de IgG, IgG2a e IgG2b anti-PBM en C/EAE fueron semejantes a 14 dpi y más altos a 35 dpi que en S/EAE. La supresión de esteroides sexuales por castración altera la respuesta inmune contra PBM y regularía diferencialmente el curso de la EAE.

98. (909) **ENCEFALOMIELITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL (EAE): ESTUDIO COMPARATIVO DE LA RESPUESTA AUTOINMUNE EN ANIMALES JÓVENES Y ENVEJECIDOS.** DITAMO YANINA, MACCIO Daniela, DEGANO Alicia, ROTH German.

CIQUIBIC-Fac. de Ciencias Qcas. UNC Departamento de Química Biológica - Universidad Nacional de Cordoba

La esclerosis múltiple es una enfermedad autoinmune con mayor incidencia en adultos jóvenes y rara en niños o ancianos. Estudiamos el desarrollo de la EAE en animales jóvenes y envejecidos y la respuesta inmune en distintas etapas de la enfermedad. La EAE inducida en ratas Wistar de 7 semanas (J/EAE) se caracterizó por un periodo agudo con síntomas neurológicos en el 59% de los animales inmunizados. En los animales de 15-18 meses (E/EAE) el estadio agudo comenzó mas tardíamente, con una incidencia de sólo 14,6%. La respuesta de células T contra la proteína básica de mielina (PBM) en el grupo E/EAE no se limitó al periodo agudo como en J/EAE sino que se mantuvo durante la recuperación. La relación entre los isotipos IgG2b e IgG1 anti-PBM indicó una respuesta preferencial tipo Th1 durante el período agudo de ambos grupos y una desviación hacia Th2 durante la recuperación, pero con una respuesta de mayor magnitud en J/EAE. Cuando se estudió la especificidad de respuesta humoral contra diversos epitopes de PBM, durante el período agudo el grupo J/EAE mostró una respuesta dominante contra la secuencia 95-128, principalmente las ratas con parálisis. El grupo E/EAE no mostró esta dominancia. Por otra parte, en ambos grupos la etapa de recuperación se caracterizó por una mayor heterogeneidad y magnitud de la respuesta anti-PBM. La diferente naturaleza de la respuesta anti-PBM en animales envejecidos podría explicar la mayor resistencia a la aparición de los síntomas neurológicos.

99. (959) **EFFECTOS PERIFERICOS SOBRE LA ACTIVIDAD LINFOCITARIA PRODUCIDOS POR LA REGULACION "IN VIVO" DEL EJE TIROIDEO.** KLECHA ALICIA, GORELIK Gabriela, PIROLA Carlos, GENARO Ana María, BARREIRO ARCOS María Laura, GARCIA Silvia, SCHUMAN Mariano, ALVAREZ Azucena, CREMASCHI Graciela.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos CEFYBO-CONICET. Instituto de Investigaciones Medicas A.Lanari, UBA

Los sistemas inmune y endócrino funcionan en forma coordinada, habiéndose evidenciado su carácter bidireccional. En este trabajo se analiza la modulación de la actividad linfocitaria por el eje tiroideo en ratones BALB/c eutiroideos (E), hipertiroideos (RT4, inoculados con 40 µg/ día de tiroxina, T4, por 1 mes) e hipotiroideos (PTU, tratados con propiltiouracilo al 0.05% en el agua de bebida por 15 días). Los valores séricos de T4 (µg/dl), T3 (ng/dl) y TRH hipotalámica (pg/mg de proteína) respectivamente, confirmaron cada status tiroideo: E 4.5±0.4; 106±9; 625±50, RT4 28.7±1.7; 479±80; 309±38; PTU 64±7; <1.7; 1348±132. Se cultivaron linfocitos de ganglio con Con A, 2 µg/ml y de bazo con LPS, 15 µg/ml, calculándose los índices de estimulación (IE) (dpm con mitógeno / dpm basal, por incorporación de [3H]Timidina) y se relacionaron con la actividad de proteína quinasa C asociada a membrana (PKCm, por fosforilación de histona). Resultados: IE Con A y LPS respectivamente: E=340±17 y 133±18; RT4= 580±31* y 189±13.5*; PTU=73±5* y 57±4*. PKCm (pmol/min/10(7)cel): E=2.5±0.2; RT4= 6.8±0.5*; PTU=1.9±0.2, p<0.01. Además se observó que el status tiroideo no modifica la relación CD4+/CD8+ ni la proporción de células CD4-CD8 negativas. Los resultados muestran que la modulación "in vivo" del eje tiroideo ejerce una acción sobre la proliferación linfocitaria, sin alterar la proporción de los subtipos celulares, a través de la regulación de la actividad de PKC.

100. (1014) FOSFATASA ACIDA PROSTATICA (PAP) ES RECONOCIDA POR LA RESPUESTA INMUNE EN MODELOS EXPERIMENTALES DE PROSTATITIS AUTOINMUNE. MOTRICH RUBEN DARIO, MACCIONI Mariana, RIERA Clelia, RIVERO Virginia.

Inmunología. Dpto. Bioquímica Clínica. Fac. Cs. Qcas. Universidad Nacional de Córdoba.

La prostatitis crónica no bacteriana (NBP) es una patología cuya etiología y patogénesis están poco esclarecidas, en parte debido a la falta de modelos experimentales apropiados. Hemos demostrado respuesta autoinmune contra antígenos prostáticos en un grupo de pacientes con NBP, siendo PAP uno de los principales antígenos reconocidos. En este trabajo analizamos si PAP es capaz de inducir prostatitis autoinmune en ratones C57BL/6 con el objetivo de describir un modelo experimental más ajustado a la realidad. Para ello, se inmunizaron ratones con extracto prostático humano total (EP) (grupo 1; n=7) o PAP (grupo 2; n=7) y se estudió la respuesta inmune humoral, celular y la lesión histológica en próstata. Tanto los animales del grupo 1, como los del grupo 2 desarrollaron respuesta celular (Índices de proliferación: 10.52 ± 1.44 y 10.25±2.9 respectivamente) y humoral (absorbancia a 490nm: 1,8 ± 0.9 y 1.25 ± 0.2 respectivamente) contra PAP. Observamos infiltrados focalizados de neutrófilos y linfocitos en próstata de animales del grupo 2 y en menor grado en los del grupo 1. En ningún caso se observaron alteraciones histológicas en vesícula seminal. Aunque ambos grupos desarrollaron respuesta inmune humoral y celular contra PAP, las lesiones histológicas más severas se encontraron en el grupo 2. Podemos concluir que PAP es un buen antígeno inductor de prostatitis autoinmune. Nuevas formas de inmunización serán exploradas para lograr inducir mayores lesiones en el órgano blanco.

101. (1029) EL HÍGADO COMO BARRERA ANATÓMICA Y MARCADOR SISTÉMICO DE LA PROGRESIÓN DE LA INFECCIÓN POR CANDIDIA ALBICANS EN UN MODELO DE CANDIDIASIS Y ESTRÉS. SALIDO RENTERIA BEATRIZ M., CORREA Silvia, CANO Roxana, CEJAS Hugo, SOTOMAYOR Claudia.

Inmunología, Cátedra de Patología, Fac. de Medicina, UNC. Clínica I, Fac. de Cs. Qcas., UNC.

Durante las etapas tempranas de la diseminación endógena de *C. albicans*, el hígado constituye la primera barrera de defensa para las levaduras de origen intestinal. Nosotros desarrollamos en ratas Wistar un modelo in vivo de candidiasis-estrés que permite profundizar la importancia de este órgano como barrera anatómica y como marcador sistémico de la progresión de la infección. Los animales fueron infectados (Ca) o infectados y estresados (CaE) y sacrificados luego de tres días. El grupo Ca presentó un aumento de la alfa

2-macroglobulina y una disminución de la pre-albúmina; mientras que en el grupo CaE se observó un leve aumento de la proteína de fase aguda, acompañado de una franca disminución de la pre-albúmina. A nivel hepático se encontró correlación entre la disminución del peso del órgano y el incremento de los niveles séricos de glucocorticoides en animales expuestos a los distintos tratamientos. Como consecuencia de la infección la producción hepática de óxido nítrico estuvo incrementada; la exposición al estrés reguló negativamente la producción de este metabolito (Ca vs CaE p<0,02). Ambos grupos presentaron aumento de los niveles séricos de TNF-alfa (ELISA y ensayo biológico) 24h post-infección; el estudio cinético reveló una regulación negativa de esta citoquina inflamatoria al cabo de 72h. El hígado se comporta como marcador sistémico de la infección por *C. albicans*, reflejando además la mayor severidad del proceso infeccioso luego de la exposición al estrés.

102. (1119) "POSIBLE PARTICIPACIÓN DE CÉLULAS NKT EN LA PATOGENESIS DE LA HEPATITIS AUTOINMUNE TIPO I". PALADINO Natalia, DE BIASIO María Bárbara, CIOCCA Mirta, FAINBOIM Hugo, FAINBOIM Leonardo, CHERÑAVSKY Alejandra.

Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Htal de Pediatría "J. P. Garrahan". Serv. de Hepatología. Htal "F. J. Muñiz".

La hepatitis autoinmune tipo I (HA) se caracteriza por una respuesta inflamatoria hepática progresiva, hipergamaglobulinemia, y presencia de autoanticuerpos. Pacientes adultos (HAa) y pediátricos (HAp) presentan similares características histológicas y serológicas, pero difieren en aspectos clínicos y genéticos. Recientemente demostramos mayores niveles estacionarios de expresión de citoquinas Th1 (IFN-g, IL-12p40, IL-18 e IL-12Rb2) y Th2 (IL-4) en el hígado de pacientes pediátricos con HA, sugiriendo un papel inmunoregulatorio para las células NKT hepáticas (fuente de IL-4 e IFN-g). Objetivo: evaluar la expresión de la cadena Va24 del TCR, portado por este tipo celular, en biopsias hepáticas y sangre periférica de pacientes con HA e individuos normales (HN). Metodología: Va24 fue analizada por RT-PCR-Southern blot y normalizada según el contenido de b-actina. Resultados: En el grupo HA se incluyeron pacientes adultos cuyo perfil de expresión de citoquinas no difirió significativamente del de un nuevo panel de pacientes pediátricos analizados. Va24 es mayor en el tejido hepático (HA (n=8): 3.27±/-2.26 vs HN(n=6): 0,12±/-0,05, P<0.005 y menor en PBMC (HA(n=9): 7.75±/- 3.08 vs HN (n=3): 146±/- 73.8, P<0.005) en los pacientes respecto de los individuos normales. Conclusión: las variaciones en Va24 confirmarían el reclutamiento de células NKT al parénquima hepático, y su posible participación en la patogénesis de la HA, en correlación con el perfil de citoquinas dominantes.

103. (1123) LA SUPRESIÓN DE LA INFLAMACIÓN OCULAR INDUCIDA POR GALECTINA-1 EN LA UVEITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL INVOLUCRA POLARIZACIÓN HACIA PERFILES T2/ T3 Y MODULACIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN GATA-3. TOSCANO MARTA, COMMODARO Alessandra, RUBINS-TEIN Natalia, MARTIN Andrea, SERRA Horacio, RIZZO Luis, RABINOVICH Gabriel.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Facultad de Medicina, UBA Div. Alergia e Inmunol Clínica, Fac Med, USP, Brasil y Dpto Bioq Clínica, Fac Cs Qcas, UNC, Córdoba

La uveítis autoinmune experimental (UAE) es un modelo de inflamación ocular de tipo T1. Recientemente describimos que galectina-1 (Gal-1), proteína de unión a b-galactósidos, suprime las manifestaciones clínicas e histopatológicas al ser inyectada en las fases aferente o eferente de la UAE. El objetivo del presente estudio fue investigar in vivo los mecanismos celulares y moleculares involucrados en este efecto anti-inflamatorio. Ratones B10A fueron inmunizados con IRBP (60 mg) e inyectados (ip) con Gal-1 (10 mg) o placebo los días 2, 4 y 6 (fase aferente) ó 14, 16 y 18 (fase eferente). Las manifestaciones clínicas e histopatológicas fueron comparadas con los niveles de citoquinas T1, T2 y T3 en ganglios (ELISA) y con factores de transcripción asociados a estos perfiles (Western blot). Gal-1 indujo un incremento en los niveles de IL-10

e IL-5 y disminución de IFN γ respecto a grupos controles ($p < 0.05$) en la fase aferente de la UAE, mientras que el tratamiento en la fase eferente generó un importante aumento de TGF β . Acompañando este efecto antiinflamatorio, se observó un incremento del factor de transcripción GATA-3 en animales tratados con Gal-1 en la fase aferente de la UAE. No se encontraron diferencias en los niveles de apoptosis inducida por activación en linfocitos de animales tratados con Gal-1 en la fase aferente de la enfermedad. El presente estudio provee nuevas evidencias sobre los mecanismos involucrados in vivo en la respuesta antiinflamatoria inducida por Gal-1.

- 104. (1133) DIFERENCIAS EN EL INFILTRADO HEPÁTICO DE CÉLULAS MONONUCLEARES ENTRE HEPATITIS AUTOINMUNE PEDIÁTRICA TIPO I Y HEPATOPATÍAS CRÓNICAS DE ETIOLOGÍA VIRAL.** DE BIASIO MARÍA BÁRBARA, PALADINO Natalia, DORN Gabriela, CUARTEROLO Miriam, DE MATEO Elena, AVAGNINA Alejandra, FAINBOIM Leonardo, CHERNAVSKY Alejandra.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Htal. de Pediatría "J.P. Garrahan". Htal. de Niños "Dr. R. Gutiérrez"

La hepatitis autoinmune tipo I (HA) es una patología crónica de etiología desconocida con lesiones hepáticas inflamatorias características que con frecuencia evolucionan a cirrosis. En trabajos anteriores presentamos la caracterización parcial de su infiltrado celular. Objetivo: completar la caracterización inmunofenotípica del infiltrado celular en HA en pacientes pediátricos (HAp) y adultos (HAa). Evaluar su especificidad estudiando otras hepatopatías crónicas, de origen viral (HV). Metodología: detección inmunohistoquímica de Bak, Fas-L, CD8, CD56 y CD57, en espacios portal (EP), periportal (EPP) y lobulillar (EL) en biopsias hepáticas provenientes de 14 niños (7a, rango 2-12), 10 adultos (43a, rango 17-59) y 10 pacientes con hepatitis crónica C o B. La asignación de scores de positividad se analogó a la clasificación anatómo-patológica de Knodel. Resultados: Bak está presente en todas las áreas, sin diferencias entre HA y HV. Se observaron LTCD8+ en EP y EPP en ambas hepatopatías, con rasgos diferenciales en HA: marcado predominio periportal y presencia lobulillar. Se destaca la expresión de Fas-L, CD56 y CD57 en espacio portal y periportal en HV, siendo leve/moderada su expresión en todas las áreas en HA. Conclusiones: la apoptosis mediada por Bak es común a la regulación de las poblaciones celulares infiltrantes en ambas hepatopatías crónicas. En HA coexisten mecanismos efectores con predominio de los mediados por LTCD8+. Células NK (NKT?) mantienen en la cronicidad en HV.

METABOLISMO Y NUTRICIÓN I

- 105. (432) EFECTOS COMPARADOS DE OLEOIL-ESTRONA (OE) Y DE RESTRICCIÓN CALÓRICA SOBRE LA COMPOSICIÓN CORPORAL DE RATAS β ADULTAS CON OBESIDAD Y DIABETES GENÉTICAS.** POSADAS MARTA, OLGUIN María Catalina, LABOURDETTE Verónica, ZINGALE María Isabel, REVELANT Gilda, GAYOL María del Carmen, CALDERARI Susana.

Cátedra de Biología Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario. Área Química Aplicada Facultad Ciencias Bioquímicas Universidad Nacional de Rosario

Alemaný y col comprobaron en roedores con diferentes tipos de obesidad un efecto adelgazante de OE la que estimularía específicamente la pérdida de grasa y minimizaría la de proteína. Nos propusimos comparar los efectos de OE y de una restricción calórica sobre la biomasa y la composición corporal de ratas genéticamente obesas y diabéticas. Se trabajó con ratas de 200 días. Se midió diariamente ingestión y biomasa. Los grupos comparados: OE:OE en dosis de 10 mM/kg/día, en 0.2 ml de aceite de girasol (vehículo) por sondaje gástrico 10 días. CONTROL: sondaje con vehículo sin OE. REST: como CONTROL pero con una restricción calórica igual a la disminución espontánea de ingestión verificado en OE. Al 11º día se sacrificaron los animales (MEDIA \pm ES). En cada variable letras distintas junto a las cifras indican diferen-

cia significativa Biomasa(g):OE:376 \pm 15.4xy CONTROL: 432.8 \pm 24.6x RESTR:362.7 \pm 9.7y Peso relativo de pániculos adiposos perirrenales(g/100gbiomasa): OE: 2.1 \pm 0.17a CONTROL: 2.6 \pm 0.1b RESTR: 1.9 \pm 0.1a Peso relativo de pániculos adiposos perigonadales (g/100g biomasa): OE:2.0 \pm 0.1c CONTROL:2.0 \pm 0.2c RESTR: 2.0 \pm 0.1c. Composición corporal porcentual de grasa proteína y agua (g/100g biomasa). Grasa: OE:16.9 \pm 0.6d CONTROL:19.9 \pm 0.8e RESTR:17.2 \pm 0.7d. Proteínas: OE:17.2 \pm 0.3f CONTROL:16.3 \pm 0.1g RESTR:16.8 \pm 0.1f. Agua: OE: 62.2 \pm 0.7h CONTROL: 60.7 \pm 0.4h RESTR: 62.2 \pm 0.8h. Con OE se obtienen valores de biomasa y composición corporal que no difieren de los de la restricción calórica estudiada.

- 106. (433) OLEOIL-ESTRONA (OE) Y RESTRICCIÓN CALÓRICA SOBRE INGESTIÓN Y PARAMETROS PLASMÁTICOS DE RATAS β ADULTAS CON OBESIDAD Y DIABETES GENÉTICAS.** POSADAS MARTA, LABOURDETTE Verónica, GAYOL María del Carmen, CALDERARI Susana.

Cátedra de Biología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Alemaný y col comprobaron en roedores un efecto adelgazante de OE al provocar ésta una disminución de ingestión de alimento sin descenso de gasto energético, con poca variación de otros parámetros metabólicos. Nos propusimos comparar los efectos de OE y de la restricción calórica sobre la ingestión y algunos componentes plasmáticos en ratas genéticamente obesas y diabéticas. Se trabajó con ratas β de 200 días. Se midió diariamente ingestión y biomasa. Los grupos comparados: OE:OE en dosis de 10mM/kg/día, en 0.2ml de aceite de girasol (vehículo) por sondaje gástrico 10 días. CONTROL: sondaje con vehículo sin OE. REST: como CONTROL pero con una restricción calórica igual a la disminución espontánea de ingestión verificada en OE. Ingestión(g): CONTROL:278 \pm 14 vs OE:155 \pm 10***. Al día 11 se dosó: (MEDIA \pm ES). En cada variable letras distintas junto a las cifras indican diferencia significativa. Triglicéridos(g/l) OE:3.2 \pm 0.7a CONTROL: 4.3 \pm 0.5b RESTR:1.4 \pm 0.2c. Colesterol(g/l)OE:0.5 \pm 0.1d CONTROL:1.2 \pm 0.1e RESTR:0.9 \pm 0.1f. Glucosa(g/l)OE:2.0 \pm 0.3gh CONTROL:2.9 \pm 0.5h RESTR:1.9 \pm 0.2g. Insulina(mUI/ml)OE:3.4 \pm 0.5i CONTROL:10.3 \pm 2.4j RESTR:3.6 \pm 0.7i. La disminución altamente significativa de colesterolemia en OE respecto de CONTROL podría indicar un efecto de OE independiente de la disminución de ingestión y biomasa ya que éstas se produjeron igual que en REST. La trigliceridemia se redujo más significativamente en REST. Glicemia e insulinemia en OE y REST se comportaron en forma semejante

- 107. (675) CONSUMO DE CIGARRILLO Y CONTROL DEL PESO CORPORAL EN MUJERES JOVENES.** FACCHINI MONICA, ROZENSZTEJN Ruth.

Instituto Psicosomático de Buenos Aires, Sociedad Argentina de Obesidad y Trastornos Alimentarios

Es conocido el efecto del hábito de fumar (F) sobre el peso (P) corporal. Objetivo: evaluar la utilización del cigarrillo para el control del P y la alimentación (A) en mujeres jóvenes. Se estudiaron: estatus de fumador (FU) y motivos vinculados al P y la A (MVPA), grado de acuerdo con la creencia (C): "el cigarrillo ayuda a controlar el P" y restricción dietaria (RD)(DEBQ-R) en 144 estudiantes (18-27 años). 27% refirió F "porque le quita un poco el hambre", 24% "para no picotear cuando está aburrida", 19% "al final de una comida para así no comer de más" y 16% "para evitar comer". 48% supuso comer más y 34% aumentar de P, si dejaron de F y, 37% y 34% respectivamente, los consideró motivos para no dejar de F. Hubo diferencias significativas entre FU con RD y no FU sin RD en el grado de acuerdo con la C (Kruskal-Wallis, $p < .01$). Los FU con RD tuvieron valores de RD significativamente más elevados que los no FU con RD (32.9 \pm 7 vs. 29.6 \pm 5; $p < .05$). Aquellos sujetos que marcaron los MVPA tuvieron mediciones significativamente más elevadas en el DEBQ-R que aquellos que no marcaron ninguno (t-test, $p < .05$), la proporción de sujetos con RD fue significativamente mayor para la mayoría de los MVPA (Fisher, $p < .05$) y hubo una correlación positiva entre nivel de RD y cantidad de MVPA marcados (Spearman,

$r=0.48$; $p<0.001$). Los MVPA son un rasgo pertinente al hábito de F en las mujeres con RD. Sería relevante identificar este grupo de riesgo para proveer intervenciones específicas.

108. (737) PARTICIPACIÓN DE LA GLUCOSA (G) EN LAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR FLUORURO (F) EN LA HOMEOSTASIS DEL FOSFATO (P). DILORETO V., CAFERRA C., FERNÁNDEZ M. C., LOCATTO M., PUCHE R.

Facultad de Medicina, Laboratorio de Biología Osea. Universidad Nacional de Rosario

El F produce hiperfosfatemia e hiperfosfatúria en la rata. Este trabajo analiza la participación de la G en las alteraciones producidas por F en la homeostasis del P, a nivel renal y eritrocitario. Transporte renal de P: Se midió P, G y Na basales y luego de suministrar sucesivamente F (40 mmoles/100 g per os) y F+G (perfusión). El F produjo aumentos significativos de P urinario (4.6 ± 1.3 mg/min) y plasmático (1.1 ± 0.3 mg/dL), respecto de niveles basales. La perfusión con G mostró que el F no afectó los mecanismos reabsortivos. Se observaron correlaciones positivas ($p<0.01$) entre G vs Na, G vs P y Na vs P. Se observó la competencia entre G y P reabsorbidos (pendiente Controles 3.6 ± 0.9 μ moles/min, con F: 4.0 ± 0.5 , y con G+F: 11.9 ± 1.4). Metabolismo del P. Tres grupos de 3 ratas recibieron (por 100 g de peso): F (40 μ moles), G (0.5 g ip) e insulina (2U sc). Grupo 1: G+insulina, Grupo 2: G+insulina+F y Grupo 3: F. Los animales de los grupos 2 y 3 mostraron aumentos significativos del P eritrocitario y plasmático, respecto del grupo 1. Los eritrocitos controles y de ratas tratadas con F, mostraron (por cromatografía) aumento de la relación hexosas-di-P/triosas-mono-P. La relación entre estas fracciones aumentó de 0.98 a 2.53. El F no afecta el transporte tubular de P ni la competencia G-P. Se mantiene la relación entre Na y P, característica del transporte de P. El aumento de P eritrocitario indicaría inhibición de la glucólisis aunque las fluoremias fueron inferiores a 15 μ molar.

109. (784) EVALUACIÓN DE LAS DEFENSAS ANTIOXIDANTES EN EL HUMOR ACUOSO DE PACIENTES CON GLAUCOMA. FERREIRA SANDRA MARÍA, LERNER Fabián, BRUNZINI Ricardo, LLESUY Susana.

Cátedra de Química General e Inorgánica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Buenos Aires

El glaucoma es una patología multifactorial y los mecanismos propuestos del daño neuronal incluyen: isquemia, falta de factores tróficos, estrés oxidativo y excitotoxicidad. Nuestro objetivo fue establecer el estado oxidativo del humor acuoso en pacientes con glaucoma. Se evaluaron las actividades de enzimas antioxidantes y la capacidad antioxidante total (TRAP) del humor acuoso. El humor acuoso de 24 pacientes con glaucoma de ángulo abierto (POAG), 18 con glaucoma de pseudoexfoliación (GPEX) y 32 controles fueron obtenidos mediante cirugía. El TRAP fue medido por luminiscencia. Las actividades de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx) fueron medidas por espectrofotometría. La actividad de SOD se incrementó en los pacientes con GPEX (44.2 ± 6.7 U SOD / mL) comparados con los pacientes controles (26.5 ± 0.6 U SOD / mL; $p<0.0001$). La actividad de GPx fue tres veces mayor en los pacientes con GPEX comparado con los controles (6.1 ± 0.6 U / mL; $p<0.0001$) No se encontraron cambios significativos en la catalasa. Los valores de TRAP para los pacientes con GPEX fueron 66 ± 13 μ M Trolox y para el grupo control 124 ± 5 μ M ($p<0.0001$). No se encontraron diferencias significativas entre el estado antioxidante del humor acuoso con GPEX y con POAG. SOD, GPx y TRAP podrían ser útiles como marcadores de daño oxidativo en pacientes con glaucoma. El estrés oxidativo jugaría un rol importante en la producción del daño glaucomatoso.

110. (851) EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE PARCIAL PLASMÁTICA. EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDO ASCÓRBICO. HUARTE MÓNICA, PIEHL Lidia, FACORRO Graciela, RUBIN DE CELIS Emilio.

Cátedra de Física y LANAIS RLBM, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

En los organismos aeróbicos existen distintos mecanismos de defensa antioxidante para prevenir y/o reparar el daño producido por los radicales libres. Para asegurar un normal funcionamiento celular es necesario un adecuado nivel de antioxidantes (AO). A fin de evaluar la capacidad antioxidante parcial plasmática (CAPP) en distintas situaciones antioxidantes, se estudiaron plasmas sanguíneos con y sin el suplemento de ácido ascórbico (AA), midiendo la neutralización del radical TEMPO producida por los AO presentes en la muestra. Cantidades fijas de TEMPO se agregaron a los plasmas en estudio y se midió, mediante Resonancia Paramagnética Electrónica en un Espectrómetro Bruker ECS 106, la disminución de la señal de dicho radical en función del tiempo, la cual es proporcional a la cantidad de AO. Las CAPP fueron calculadas como concentraciones equivalentes respecto al AA por simulación de la cinética de neutralización del radical Tempo de acuerdo a un modelo previamente desarrollado. El valor de referencia promedio de la CAPP, obtenido en pacientes ambulatorios con edades comprendidas entre 20 y 50 años, sin patologías declaradas y no fumadores, fue 91 mM (S = 32 mM), expresado como concentración equivalente respecto al AA. El agregado in vitro de distintas cantidades de AA a los plasmas mostró una correlación lineal, $r(2) = 0.99$. La metodología propuesta permitirá evaluar el estado antioxidante en distintas patologías, así como el efecto de tratamientos y suplementos dietarios.

111. (983) ANESTÉSICOS VOLÁTILES Y ESTRÉS OXIDATIVO. BUZALEH ANA MARÍA, AFONSO Susana Graciela, MARTINEZ María del Carmen, BATLLE Alcira.

Ctro de Inv.sobre Porfirinas y Porfirias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

Los fármacos son factores exógenos que pueden precipitar ataques de porfiria aguda; los anestésicos están generalmente involucrados. Otro factor desencadenante es el estrés. Previamente demostramos que los anestésicos volátiles producían alteraciones en el metabolismo del Hemo y en el sistema metabolizante de drogas que reproducen los signos bioquímicos de una porfiria aguda. El objetivo fue investigar el desarrollo de estrés oxidativo por la administración de Enflurano, Isoflurano o Sevoflurano a ratones. Los animales recibieron una dosis de 2 ml/kg y se sacrificaron a los 20 minutos. No se observaron variaciones significativas en los niveles de TBARS ni en las actividades de catalasa y glutatión reductasa por acción del Enflurano o Isoflurano, si bien se detectó una disminución del 20% ($p<0,05$) en el GSH (VN:58,171 8,002). La actividad de glutatión peroxidasa se indujo un 28% ($p<0,05$) luego de la anestesia con Isoflurano, mientras que la superóxido dismutasa mostró una respuesta diferente dependiendo del anestésico. El Sevoflurano causó una significativa disminución en la actividad de catalasa (Act. Esp (nmol/mg). control: 61,825 23,873; tratado: 43,946 16,787). En conclusión se observó que los anestésicos estudiados no producirían daño hepático que involucre la peroxidación de lípidos de membrana, ya que no hubo niveles elevados de TBARS. Sin embargo, las alteraciones observadas en otros marcadores de estrés oxidativo indicarían su incipiente desarrollo en el hígado.

112. (984) EFECTO DE LA HEMINA SOBRE EL CRECIMIENTO DE TRYPANOSOMA CRUZI. LOMBARDO MARÍA, ARAUJO Lidia, CICCARELLI Alejandra, BATLLE Alcira.

Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias, CONICET - FCEN (UBA)

Trypanosoma cruzi requiere el agregado de compuestos hémicos durante su crecimiento. Nuestro objetivo fue estudiar el efecto de distintas concentraciones de hemina en el medio (0-30mg/l) sobre el crecimiento del parásito. Se evaluó: tasa de crecimiento (contando las células), cambios morfológicos al microscopio óptico, niveles intra y extracelulares de ácido 5-aminolevulínico - ALA (precursor del hemo), poder inhibitorio del extracto de T.cruzi sobre la actividad de ALA-Sintetasa y estado de óxido reducción de la célula (niveles de glutatión reducido, GSH y malondialdehído, MDA). Con una concentración de hemina de 5 mg/l y 6 días de cultivo se obtuvo la mayor tasa de crecimiento ($22,81\pm 3,16$); concentraciones

más altas producían cambios morfológicos indeseables e inhibían el crecimiento (50% para hemina 30 mg/l). Al variar la concentración hemina de 0-30mg/l, el ALA intracelular no varía (0,40±0,06 nmoles/mg), pero sí disminuye el ALA extracelular, de 85,06±10,25 a 58,54±0,75 nmoles/mg. El poder inhibitorio del extracto de T. cruzi desciende un 25% al variar la hemina de 0 a 5mg/l. El contenido de GSH fue máximo (24,28±1,89 nmoles/mg) para hemina 5mg/l, disminuyendo luego hasta un 50% para hemina 30mg/l. El MDA mostró un valor máximo de 2,81±0,25 nmoles/mg para hemina 15mg/l, para disminuir luego. La concentración óptima de hemina para obtener un cultivo de epimastigotes fue de 5mg/l, valores mayores favorecerían los procesos oxidativos alterando la morfología de la célula.

- 113. (1092) EFECTO CRONICO DE DIETAS BAJAS EN GRASA Y/O CALCIO SOBRE LA MASA OSEA, DURANTE EL EMBARAZO Y LA LACTANCIA: MODELO EXPERIMENTAL.** FERREIRA MON-TEIRO ANDREA, SUAREZ Cristina, RODRÍGUEZ Patricia, VACAS Irene, ZENI Susana, FRIEDMAN Silvia.

Cátedra de Bioquímica General y Bucal. Facultad de Odontología. UBA Sección Osteopatías Médicas. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina UBA

El patrón alimentario se relaciona con el nivel socio-económico. En Argentina, a menor nivel, mayor sustitución de lípidos (LIP) por carbohidratos (HC), alejándonos de la relación calórica HC-LIP 1:1 adecuada que en general se acompaña de disminución en la ingesta de calcio. Durante el embarazo y la lactancia el organismo materno se adapta para cubrir las necesidades del feto y asegurar una correcta producción de leche. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto del consumo crónico de dietas desequilibradas sobre la masa ósea, durante el embarazo y lactancia. Se utilizaron 20 ratas Wistar hembras que al destete se dividieron en 4 grupos, alimentados con HC-LIP 1:1 ó 3:1 y 0.6% ó 0.3% de calcio. A los 70 días de edad se aparearon (T0). Se midió a T0 y al finalizar la lactancia (Tf): peso corporal (g) y por DXA (Lunar DPX) contenido mineral óseo (CMO, mg) y densidad mineral ósea (DMO, mg/cm(2)) de columna y tibia proximal. Los porcentajes de disminución observados entre T0 y Tf fueron: El CMO/P, la DMO columna y la DMO tibia proximal disminuyeron respectivamente 5%; 5% y 4% para la dieta 1:1 0.6; 29%; 14% y 7% para la dieta 1:1 0.3; 36%; 22% y 17% para la dieta 3:1 0.6 y 48%; 13% y 11% para la dieta 3:1 0.3. El cambio normalmente esperado en estos parámetros (1:1-0.6) se incrementó en los animales alimentados con menor contenido cálcico y se agravó aún más por el desequilibrio en la relación calórica HC-LIP. Subsidiado por UBACyT O-017.

- 114. (1103) EFECTO DE LA DEFICIENCIA DE ZINC SOBRE PARÁMETROS LIPÍDICOS EN EPIDÍDIMO DE RATA.** FERNANDEZ MARÍA, GOMEZ Nidia, ZIRULNIK Fanny, GIMENEZ Sofia.

Universidad Nacional de San Luis, Bioquímica Molecular

El Zinc es un oligoelemento indispensable para el equilibrio metabólico celular. Estudios previos muestran un elevado índice de lipoperoxidación en epidídimo. El objetivo fue estudiar el efecto de la deficiencia de Zn sobre parámetros lipídicos en epidídimo. Se separaron ratas machos Wistar de 200g. en dos grupos: I) Control (Co) con una dieta con 30 mg de Zn/kg y II) Zn deficientes (ZD) con una dieta deficiente en Zn. A los 4 meses se sacrificaron y las determinaciones se hicieron en cabeza y cola de epidídimo. Se determinó colesterol total (CT), esterificado (CE) y libre (CL) según Zack, triglicéridos (TG) según Sardesai, y fosfolípidos totales (FLT) según Rouser CT y CE (mg/g tej), presentan en cabeza y cola un aumento ($p < 0.001$) del grupo ZD con respecto al Co y para CL no se observan diferencias. Los TG (mg/g tej) no se modificaron en cabeza y mostraron un aumento ($p < 0.01$) en cola ZD respecto al Co. Los FLT (mmol P/g tej) solo mostraron un descenso ($p < 0.05$) en la cola de ZD respecto del Co. Basándose en los porcentajes, la composición fosfolipídica en cabeza de epidídimo ZD fue: mayor % de Sph ($p < 0.01$), menor % de PC, LPC y PE ($p < 0.05$), sin diferencias para PG y PS + PI. Los resultados obtenidos en cola de epidídimo fueron: mayor % de PE ($p < 0.05$), menor % de LPC y Sph ($p < 0.05$) y sin modificaciones: PC, PS + PI y PG. En una deficiencia moderada de Zinc, tanto

la cabeza como la cola del epidídimo sufrirían una alteración del patrón lipídico luego de 4 meses de tratamiento.

- 115. (1117) EFECTOS AGUDOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE SOBRE LA GLÁNDULA SUBMAXILAR DE RATA.** DE LA CAL CAROLINA, MOHN Claudia*, SCORTICATI Camila*, LUCHELLI María**, CHIARENZA Ana**, FALETTI Alicia*, RETTORI Valeria*, ELVERDIN Juan Carlos.

*Cátedra de Fisiología FOUBA *CEFyBO, **Cátedra de Bioquímica FOUBA (Subsidio UBACyT O 024)*

La radiación (Rx) en cabeza y cuello produce alteraciones estructurales y funcionales de las glándulas salivales, dependiendo de la dosis y la extensión del campo de Rx. Previamente, encontramos una significativa disminución de la secreción salival inducida por agonistas autonómicos a los 30 y 60 días post-radiación. En el presente trabajo, estudiamos los efectos agudos de una única aplicación de 15 Gy sobre mediadores de la respuesta inflamatoria tal como el óxido nítrico (NO) y la prostaglandina E2 (PGE2) en hipotálamo medio basal (HMB) y glándula submandibular (GS). Se midió en ratas hembras adultas la actividad de la iNOS (14C-citrulina) y PGE2 (RIA) en HMB y GS a la hora y a las 4 horas post-Rx. La Rx aumentó significativamente la actividad de la iNOS hipotalámica a la hora: control: 0.17 ± 0.02 y Rx: 0.30 ± 0.03 $p < 0.05$, al igual que la NOS total a las 4 horas: control: 8.20 ± 0.24 y RX: 10.20 ± 0.39 $p < 0.01$ En la GS la iNOS descendió un 39% a la hora y un 35% a las 4 horas, respecto del control. La PGE glandular se incrementó a la hora: control: 308.3 ± 29.0 y Rx: 540.8 ± 68.7 $p < 0.01$, descendiendo posteriormente a 259.3 ± 35.3 $p < 0.001$ a las 4 hs. Post-Rx. Los resultados demuestran la aparición de efectos inflamatorios tempranos sobre la glándula submaxilar de la rata y su vinculación con las funciones neuroendocrinas hipotalámicas inducidas por la radiación ionizante.

- 116. (1121) LA DEFICIENCIA EN VITAMINA A AUMENTA LA EXPRESIÓN DE INOS Y COX-2, A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DE NF-KB EN AORTA DE RATA.** GATICA LAURA, ALVAREZ Silvina, ZAGO* Paola, OLIVEROS Liliana, OTEIZA* Patricia, GIMENEZ Sofia.

*Bioquímica Molecular-UNSL *Química Biológica- UBA*

El ácido retinoico regula numerosos procesos biológicos. Hemos demostrado previamente su acción antioxidante. En este trabajo, estudiamos el efecto de la deficiencia nutricional de vitamina A sobre factores que intervienen en la inflamación y el estado redox celular en aorta de rata. Ratas machos Wistar se mantuvieron por tres meses con dieta libre de vitamina A (grupo -A, n=8) y la misma dieta con 8 mg/kg. dieta de retinol palmitato (grupo control +A, n=8). Las proteínas de aorta se separaron en gel SDS-PAGE 8% . COX-2 e iNOS se identificaron por Western Blot con anticuerpos específicos y detección de bandas por el sistema Vectastain ABC. El ensayo de EMSA se realizó con radioligand nucleótidos conteniendo la secuencia de consenso para NFkB, que se incubaron con la fracción de proteínas totales de aorta. El gel se autorradiografió y las bandas se cuantificaron por densitometría. La expresión de iNOS y de COX-2 fue mayor en el grupo -A respecto al +A. Se observó mayor actividad de unión del NFkB en el ADN en extractos totales de aortas de animales -A respecto de los +A ($p < 0,05$). Estos datos muestran que en la deficiencia de vitamina A, el proceso inflamatorio y el estrés oxidativo en aorta de rata están regulados por la activación de NFkB.

- 117. (1128) ALTERACIONES BIOQUÍMICAS PRODUCIDAS POR ANESTÉSICOS VOLÁTILES EN LA LÍNEA CELULAR LBHEP Y EN RATONES INOCULADOS CON CÉLULAS LBHEP.** BUZALEH ANA MARÍA, GARCIA BRAVO (*) María, NAVARRO (*) Susana, MORAN JIMENEZ (*) María José, BATLLE Alcira, FONTANELLAS (*) Antonio, ENRIQUEZ DE SALAMANCA (*) Rafael.

Ctro. de Inv. sobre Porfirinas y Porfirias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. Unidad de Porfirias, Hospital 12 de Octubre, Madrid, España

La Porfiria hepatoeritropoyética (HEP) es la forma homocigota de la Porfiria Cutánea Tarda, caracterizada por acumulación de porfirinas debido a una deficiencia en la Uroporfirinógeno decarboxilasa. Los anestésicos volátiles fluorados se utilizan en la anestesia general. La anestesia ha estado implicada en el desencadenamiento de varias crisis porfíricas. El objetivo fue investigar los efectos del Enflurano, Isoflurano o Sevoflurano sobre el metabolismo del hemo en una línea celular linfoblastoidea (10 mM, 20 minutos) establecida a partir de pacientes con HEP (LBHEP). La actividad de 5-aminolevulínico sintetasa se indujo 5 veces (Valor control: 12,70±3,60 pmol/mg) en las células por efecto de estos anestésicos. Se observó una disminución del 25-30% (Valor control: 0,9565±0,0280 pmol/mg) en la actividad de porfobilinogenasa debido a Isoflurano y Sevoflurano. No obstante, la administración de los anestésicos generó estrés oxidativo, reflejado por la disminución en los niveles de GSH (35%) (Valor control: 29,31±1,9 nmol/mg), no se detectaron alteraciones en la actividad de Hemo oxigenasa, enzima que se induce frente a un estímulo de estrés. También se analizó el efecto del Isoflurano (2 mg/kg) en hígado y tumor de ratones inoculados con células LB45. Los resultados descriptos reprodujeron alteraciones en el metabolismo del hemo, características de otra porfiria hepática y similares a los descriptos previamente por administración de estos xenobióticos a animales.

NEUROCIENCIAS II

- 118. (480) LOS FACTORES NEUROTROFICOS BDNF Y NT-3 MODIFICAN LA NEUROTRANSMISION NORADRENERGICA EN HIPO-TALAMO DE RATA.** CHIRINO VIRGINIA, ROSON María, RODRIGUEZ FERMEPIN Martin, FERNANDEZ Belisario.

Cátedra de Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA)-CONICET.

Continuando los estudios de los factores neurotróficos (FN) sobre la transmisión noradrenérgica en hipotálamo de rata, se investigaron los efectos del Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y la neurotrofina 3 (NT-3) sobre la captación y la liberación basal y estimulada (KCl 25 mM) de 3H-noradrenalina (NA). Los experimentos se realizaron según las técnicas descriptas por Vatta y col. (Reg Pept. 65,175,1996). Los resultados indican que la captación de NA se incrementó en presencia de BDNF y no de NT-3: Control (C): 3.80±0.12; BDNF: 4.44±0.23*; NT-3: 3.92±0.48 (cpm/μg proteína ± ES). La liberación basal de NA no se modificó en presencia de ambos FN. El BDNF disminuyó la liberación estimulada de NA (expresada como porcentaje de la liberación basal ±ES), mientras que la NT-3 la incrementó. Este último efecto se inhibió con el bloqueante del receptor Trk, K252a (C: 20.48 ± 0.81; BDNF: 17.35 ± 0.30*; NT3: 24.1 ± 11.38*#; NT3+K252a: 18.71 ± 0.63) P<0.05 vs C (*) y vs K252a (#); n=4-12. Estos resultados indican que tanto el BDNF como la NT-3 regulan la transmisión noradrenérgica comportándose como neuromoduladores, ya sea facilitando (NT-3) o inhibiendo (BDNF) la actividad simpática. Dado que el efecto de la NT-3 se revirtió en presencia del inhibidor de los receptores de la familia Trk, dicho FN ejercería su efecto a través del receptor Trk C. Los efectos opuestos observados pueden atribuirse a los diferentes receptores específicos de la familia de las neurotrofinas.

- 119. (585) NADPH-DIAFORASA EN LA MEDULA ESPINAL LUMBAR DE RATAS DIABETICAS.** DORFMAN VERÓNICA B., LOPEZ-COSTA Juan, VEGA Cristina, BAYONA Julio, CAPANI Francisco, COIRINI Héctor.

Laboratorio de Neurobiología - Instituto de Biología y Medicina Experimental Lab. Neuropatología Exptal. - Inst. Biol. Celular y Neurociencias y Dept de Bioquímica Humana FM-UBA

La participación del óxido nítrico (NO) en la inducción de la erección peneana ha sido descripta tanto por su acción a nivel del cuerpo cavernoso como en el cerebro. En el núcleo paraventricular hipotalámico la actividad de la NO-sintasa se encuentra aumentada en ratas con diabetes experimental. En el presente trabajo describimos alteraciones en células que expresan actividad NADPH-diaforasa en la región espinal involucrada en mecanismos de erección peneana.

Ratas controles (C) o con 4 semanas de diabetes inducida por estreptozocina 55mg/kg (D; n=5/grupo) fueron perfundidas con paraformaldehído 4%. Cortes coronales de médula espinal lumbar se incubaron con 1mM NADPH, 2mM sal de tetrazolio (NTB) durante 60 min a 37°C. Se observaron las siguientes diferencias entre D y C: a) una disminución significativa (de 55%; p<0.05) en el número de células reactivas en láminas I a III; b) un aumento en el área reactiva (C: 265,6±23.7 μm², D: 319.4±39.5 μm²), un incremento de 75% en el número de neuronas multipolares y una disminución en el largo (64%) y número de procesos secundarios (C: 12±2, D: 3±1) en lámina X, y c) un aumento significativo en la densidad óptica relativa de motoneuronas del núcleo espinal del bulbocavernoso (C: 80.4±4.1, D: 117.5±13.1). Los cambios observados en animales D sugieren una participación directa del NO en las alteraciones somatosensoriales espinales y de plasticidad neuronal que afectan la respuesta motora en estos animales. (PIP0819/98 CONICET - M047 UBA).

- 120. (614) ALTERACIONES EN LOS NIVELES DE NEUROTRANSMISORES EN LA MEDULA ESPINAL LUMBAR (MEL) DE ANIMALES DIABETICOS.** DORFMAN VERONICA B, CATALANO Paolo, BAYONA Julio, VEGA Cristina, LIBERTUN Carlos, COIRINI Héctor.

Lab. de Neurobiología - Instituto de Biología y Medicina Experimental Lab de Neuroendocrinología IBYME, Depto Fisiología y Depto Bioquímica Humana, Facultad Medicina UBA

La presencia de alteraciones en los niveles de receptores (R) del sistema GABAérgico en MEL de ratas diabéticas, tales como aumento en R-GABA-B, disminución en R para benzodiazepinas, y ausencia de variación en R-GABA-A de alta afinidad, nos llevó a evaluar el contenido de GABA y glutamato, presentes en este tejido. Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley adultas con 3 semanas de diabetes inducida por estreptozocina (55mg/kg iv. D) y controles inyectadas con vehículo (C, n=6/grupo). La MEL fue homogeneizada, centrifugada y el sobrenadante derivatizado con HCO₃(3)Na 0,1M y cloruro de dansilo/acetona 1,25mg/ml. Los niveles de los aminoácidos (aa) se determinaron por HPLC con una columna de fase reversa C18. Se observó una disminución significativa p<0.05 de ambos aa en MEL de D vs. C [GABA C: 9.6±1.7 pmol/g prot, D: 5.9±0.4 pmol/g prot; Glutamato C: 42.4±7.3 pmol/g prot, D: 26.9±2.3 pmol/g prot]. Resultados similares fueron determinados en corteza frontal (área control) que presentó una disminución de 89% en GABA y 29% en glutamato. Se estudió además la distribución de los niveles de estos aa en 4 regiones medulares observándose un patrón similar para ambos: región lumbar > sacra > cervical > torácica. Estos resultados, permiten correlacionar la disminución en los niveles de GABA en MEL, con los cambios observados en los distintos receptores estudiados para el sistema GABAérgico allí presentes. (PIP 0819/98-CONICET).

- 121. (622) RELACION ENTRE NEUROESTEROIDES Y EL SISTEMA OPIOIDE EN LA MEDULA ESPINAL LUMBAR (MEL).** BAYONA JULIO C., FALETTI Alicia, DORFMAN Verónica, VEGA Cristina, COIRINI Héctor.

Lab. de Neurobiología - Instituto de Biología y Medicina Experimental CEFYBO y Depto. Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, UBA.

La administración local de progesterona (P4) produce variaciones en la respuesta al dolor espinal, favoreciendo una acción analgésica. Este esteroide puede sintetizarse localmente en tejido nervioso. Se evaluaron los niveles de receptores tipo-μ para opioides (MOR) y de beta-endorfinas (BE) en MEL en tres diferentes experimentos. Ratas macho Sprague-Dawley castradas (GDx, día=0) y adrenalectomizadas (ADX, día=10) recibieron inyecciones subcutáneas (día=10-15) con: P4 (4mg/kg); pregnenolona (P5; 4mg/kg); o trilostano (Tri; 40mg/kg) y sus respectivos vehículos (n=5/grupo). Los MOR fueron cuantificados en secciones coronales mediante autorradiografía cuantitativa, usando [3H]-DAMGO (5nM) como ligando, y las BE en homogenatos de MEL por RIA. Los tres tratamientos produjeron un aumento sig-

nificativo ($p < 0.001$) de la unión del ligando al MOR en la láminas I-II del asta dorsal respecto al control inyectado con vehículo, siendo estos del orden de 53%, 20% y 14%, respectivamente. Sin embargo, los niveles de BE aumentaron un 46% solamente en los tratados con P4 ($p < 0.05$). Las diferencias observadas sugieren distintos niveles locales de P4 entre los tres tratamientos evaluados. Estos resultados indican una interacción de P4 (exógena o derivada de la síntesis local) o de sus metabolitos sobre el sistema opioide, que podría alterar de esta manera la respuesta analgésica y estar involucrada en el dolor espinal. (PIP089/99-CONICET).

- 122. (660) EXPRESIÓN DE TIROSINA HIDROXILASA EN NEURONAS DE NÚCLEO ARCUATO EN DIFERENTES ESTADIOS REPRODUCTIVOS EN RATAS IFL NU Y WISTAR.** VALDEZ SUSANA R., DEIS Ricardo P., JAHN Graciela A.

Laboratorio de Reproducción y Lactancia, IMBECU, CRICYT, CONICET

Las ratas IFL Nu (Nu) tienen deficiencia en la lactancia relacionada con alteraciones en el eje dopaminérgico y bloqueo del estímulo de succión. Para profundizar el estudio de esta deficiencia, medimos la expresión de tirosina hidroxilasa (TH) en áreas hipotalámicas por inmunohistoquímica en ratas vírgenes (V), en días 19 y 21 de gestación (G19, G21) y 2 de lactancia (L2) utilizando a la cepa Wistar (Wi) como control. Se tomaron 12 secciones alternativas por animal a través del núcleo arcuato (ARC) para el conteo de neuronas positivas a TH (TH+) por microscopía óptica y también de Sustancia Nigra (SN) y Zona Incerta (ZI). Se detectaron neuronas inmunorreactivas a TH en ZI, ARC, y en SN, utilizada de control positivo. Las ratas Nu V tuvieron más neuronas TH+ (172 ± 4) que las Wi V (116 ± 8). En G19 el número de células TH+ en la cepa Nu fue 145% mayor que en la Wi, y con un patrón de distribución diferencial encontrándose más neuronas en ARC dorsomedial y posterior. En G21 la cepa Nu mantuvo el número de células positivas mientras que en la Wi aumentó, llegando a un 40% más respecto a la cepa Nu. En L2 parece haber una caída en el número de neuronas TH+ en ambas cepas. En ZI y SN no hubo diferencias en el número de neuronas TH+, pero siempre se observó una tinción más intensa en la cepa Nu. Estos resultados indican que la cepa Nu parece tener mayor tono dopaminérgico que la Wi, excepto en G21, lo que se corresponde con las diferencias observadas en la regulación de PRL.

- 123. (759) ALTERACIONES DE LA INTERACCIÓN NORADRENALINA (NA)-ENDOTELINAS (ETS) EN EL HIPOTÁLAMO ANTERIOR (HA) DE RATAS HIPERTENSAS DOCA-SAL.** RODANO VA-LERIA, DI NUNZIO Andrea, LEGAZ Guillermina, BIANCIOTTI Liliana, VATTA Marcelo.

Cátedras de Fisiología y Fisiopatología (IQUIMEFA-CONICET). Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

Es conocida la participación de la transmisión noradrenérgica y de las ETs en la regulación de la presión arterial a nivel del HA. Sobre estas bases se estudiaron los efectos de las ET-1 y 3 sobre la liberación y captación neuronal de NA (Vatta y col., Regul. Pept., 65, 175, 1996) y sobre la actividad de la Tirosina Hidroxilasa (TH) (Reinhard y col., Life Sci., 39, 1986) en HA de ratas hipertensas DOCA-sal. Los datos de liberación y captación de NA se expresan como DPM/ μ g proteína \pm SEM y la actividad de TH se expresa como la velocidad media \pm SEM. Resultados: en el HA derecho (HAD) de ratas DOCA-sal la liberación de NA y la actividad de TH disminuyeron (20 y 43% respectivamente), mientras que la captación aumentó un 40% con respecto a ratas controles. En el hipotálamo anterior izquierdo (HAI) no se observaron modificaciones. En presencia de las ETs se observó: HAD, liberación: DOCA, 1.9 ± 0.1 vs ET-1, $1.5 \pm 0.06^*$ y ET-3, $1.5 \pm 0.2^*$; captación: DOCA, 3.6 ± 0.1 vs ET-1, 3.1 ± 0.2 y ET-3, $2.3 \pm 0.2^*$; actividad TH: DOCA, 170 ± 17 vs ET-1, $310 \pm 11^*$ y ET-3, $466 \pm 17^*$; HAI, liberación: sin modificaciones; captación: DOCA, 2.3 ± 0.1 vs ET-1, $3.1 \pm 0.2^*$ y ET-3, 2.5 ± 0.1 ; actividad TH: DOCA, 123 ± 14 vs ET-1, $247 \pm 12^*$ y ET-3, $200 \pm 14^*$. * $p < 0.05$ (ANOVA y "t" test modificado por Bonferroni); $n = 6-9$. Conclusiones: 1) existe una alteración de la transmisión noradrenérgica en el HAD de ratas DOCA-sal, no observándose en el HAI; 2) existe una alteración de la interacción NA-ETs en el HA de ratas DOCA-sal vs ratas controles.

- 124. (778) MECANISMO DE ACCIÓN DEL ATP SOBRE LA LIBERACIÓN ESPONTÁNEA DE ACETILCOLINA EN TERMINALES NERVIOSAS MOTORAS.** DE LORENZO SILVANA, VEGGETTI Mariela, MUCHNIK Salomón, LOSAVIO Adriana.

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, UBA

Hemos demostrado que el ATP inhibe la liberación espontánea de ACh en sinapsis neuromuscular de mamífero por un efecto directo sobre sus receptores (R) P2, independientemente de la acción de su metabolito activo adenosina (AD). Nuestro propósito fue determinar que subtipo de R de ATP es activado para inducir inhibición presináptica (IP) y cual es su mecanismo de acción. En hemidiafragmas de ratones CF1 se estudió el efecto de ImidoATP (análogo estable del ATP) sobre la frecuencia de los potenciales de placa miniatura (fMEPPs), observándose una disminución al $55.8 \pm 3.9\%$ ($n = 4$) del control. La incubación previa con Reactivo Azul, antagonista P2Y, inhibió la acción moduladora del ImidoATP. Para investigar si ATP y AD tienen efectos aditivos o actúan sobre un efector común estudiamos sus acciones en forma secuencial. La incubación previa con ImidoATP ocluyó la IP inducida por CCPA (agonista de los R AD A1) y viceversa. Como AD reduce la porción de fMEPPs dependiente de los canales de calcio voltaje dependientes (CCVD) tipo L, estudiamos el efecto de ImidoATP luego de la incubación con nitrendipina (Nit), bloqueante de CCVD tipo L. Nit redujo fMEPPs al $56.9 \pm 1.8\%$ ($n = 4$) del control y el agregado de ImidoATP no modificó este valor ($48.7 \pm 3.2\%$). La secuencia inversa evidenció un comportamiento similar. Estos resultados sugieren que el ATP induce IP sobre la liberación espontánea de ACh al activar sus R metabotrópicos P2Y, induciendo una inhibición de los CCVD tipo L como ocurre con AD.

- 125. (827) AUMENTO DE LA EXPRESIÓN DEL ARNm DE LAS SUBUNIDADES ALFA1 Y ALFA2 DEL RECEPTOR GABAA LUEGO DE UNA HIPOXIA AGUDA.** RODRIGUEZ GIL DIEGO J., VACOTTO Marina, SCICOLONE Gabriel, FLORES Vladimir, FISZER DE PLAZAS Sara.

Instituto de Biología Celular y Neurociencia, "Prof. E. De Robertis". Fac. de Medicina, UBA.

Previamente hemos demostrado que una hipoxia hipóxica aguda normobárica disminuye el número máximo de sitios de unión de GABA al receptor GABAA, de manera edad dependiente. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar mediante hibridación in situ la expresión de las subunidades $\alpha 1$ y $\alpha 2$ del receptor GABAA y estudiar las alteraciones producidas luego del tratamiento hipóxico (O_2 al 8%, por 60 min) en el lóbulo óptico de pollo. Las sondas dirigidas contra estas subunidades, se incubaron en cortes de crióstato obtenidos de embriones controles e hipóxicos y la cuantificación de las densidades ópticas se realizó en placas autorradiográficas. Los datos obtenidos muestran que ambas subunidades se expresan tan temprano como el día embrionario (DE) 10, siendo la expresión de $\alpha 2$ superior a la de $\alpha 1$ en todas las láminas presentes durante el desarrollo. En todos los casos la mayor marcación se observó en la lámina i. Durante la embriogénesis el ARNm de $\alpha 1$ se incrementó en la mayoría de las láminas estudiadas, mientras que el de $\alpha 2$ mantuvo niveles elevados desde los estadios más tempranos. En el DE 10 se observó un significativo aumento de la expresión de ambos ARNm luego del tratamiento hipóxico en todas las láminas. En conclusión ambas subunidades presentan un patrón de expresión característico del DE y de la lámina estudiada. Asimismo, se sugiere la existencia, en condiciones hipóxicas, de un mecanismo de correlación entre los niveles de oxígeno y la expresión de $\alpha 1$ y $\alpha 2$.

- 126. (829) INHIBICIÓN PRESINÁPTICA INDUCIDA POR ADENOSINA EN SINAPSIS NEUROMUSCULAR DE MAMÍFERO.** VEGGETTI MARIELA, DE LORENZO Silvana, MUCHNIK Salomón, LOSAVIO Adriana.

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, UBA

En trabajos anteriores demostramos que en sinapsis neuromuscular de mamífero la activación de los receptores (R) A1 de adenosina induce inhibición presináptica (IP) de la liberación espontánea de ACh dependiente de los canales de calcio voltaje dependiente (CCVD) tipo L. Nuestro objetivo fue investigar el mecanismo involucrado en este proceso. Los experimentos fueron realizados en hemidiafragmas de ratones CF1 donde se registró la frecuencia de potenciales de placa miniatura (fMEEPs). Como los RA1 están acoplados a una proteína Gi/o estudiamos si la inhibición de PKA o la activación de PKC están involucradas en la inactivación del CCVD tipo L. H-89 1 μ M, inhibidor de PKA, no modificó fMEEPs ni ocluyó la IP inducida por CCPA 100 μ M, agonista de los RA1 (49.5 \pm 3.6% del control n=4). PMA 200nM, activador de PKC, no previno la acción de CCPA (54.4 \pm 2.2% n=4), sugiriendo que ni la inhibición de PKA ni la activación de PKC estarían implicadas directamente. Existen evidencias que la unión directa de Ca²⁺-calmodulina al CCVD tipo L estaría implicada en su inactivación. W-7 50 μ M, antagonista de calmodulina, no modificó la fMEEPs y previno la IP inducida por CCPA. Asimismo encontramos que la acción de CCPA es Ca²⁺ dependiente, ya que en presencia de EGTA-AM, quelante intracelular de Ca²⁺, no indujo una inhibición adicional a la provocada por el quelante (33.4 \pm 3.5% n=4). Estos resultados sugieren que Ca²⁺-calmodulina podría estar involucrada en la acción moduladora de la adenosina.

- 127. (891) EFECTOS DE LAS ENDOTELINAS 1 Y 3 (ET-1 Y ET-3) SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA (NOS), EN EL HIPOTÁLAMO ANTERIOR DE RATA.** JAUREGUIBERRY MARÍA S., DI NUNZIO Andrea S., BIANCIOTTI Liliana G., VATTA Marcelo S.

Cátedras de Fisiología y Fisiopatología, (IQUIMEFA-CONICET), FFyB, UBA.

Previamente se comprobó que en el hipotálamo anterior, las ET-1 y 3 tienen un efecto neuromodulador inhibitorio sobre la liberación de NA, mediado por la activación del receptor ETB, involucrando la vía del óxido nítrico y el receptor GABAA (di Nunzio y col., Am J Physiol 283, 2002). Nuestro objetivo fue determinar los efectos de las ET-1 y 3 sobre la actividad basal de la NOS, en el hipotálamo anterior de ratas Sprague-Dawley (250-300g). Los estudios de actividad de NOS se realizan según lo descrito por Tsuchiya y col. (Brain Res 776, 1997). En el hipotálamo anterior, las ET-1 y 3 (10nM) aumentaron la actividad basal de la NOS (77,092 \pm 38,96% ET-1; 146,65 \pm 59,93% ET-3). La respuesta inducida por ambas ETs se bloqueó por el antagonista de receptor ET[B], BQ-788 100nM pero no varió en presencia del agonista de receptor ETA sarafotoxina 6b, sugiriendo la participación del receptor ETB en dicha respuesta. El L-NAME 10 μ M, inhibidor de las tres isoformas de NOS, disminuyó la actividad inducida por ambas ETs (48,023 \pm 10,56% L-NAME; 59,405 \pm 22,80% L-NAME+ET-1; 59,008 \pm 5,911% L-NAME+ET-3). El 7-nitro-indazole (7-NI), inhibidor específico de la nNOS, tuvo un efecto similar al del L-NAME (26,74 \pm 5,216% 7-NI; 40,49 \pm 2,844 % 7-NI+ET-1; 44,33 \pm 10,68% 7-NI+ET-3). Se consideraron significativos los valores con p<0,05. Estos resultados indican que las ETs 1 y 3 tienen un efecto modulador sobre la actividad de la NOS en el hipotálamo anterior y, que dicho efecto sería mediado por el receptor ETB.

- 128. (982) APOPTOSIS Y RECEPTOR NMDA EN UN MODELO DE HIPOXIA AGUDA PRENATAL.** VACOTTO MARINA, PAZ Dante¹, FISZER DE PLAZAS Sara.

Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. Dr. E. De Robertis", Fac. de Medicina, UBA. ¹Instituto de Neurociencias, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

La exposición del SNC a condiciones hipóxicas produce desórdenes en la neurotransmisión excitatoria e inhibitoria. El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar las alteraciones celulares y moleculares producidas por una hipoxia hipóxica aguda normobárica (O₂ al 8%, por 60 min.) en el complejo receptor NMDA, y su posible reversión en condiciones normóxicas. A tal fin, en el día embrionario 12 se realizaron dos metodologías: 1) ensayos de unión de [3H]MK-801 a una fracción de membranas sinápticas aisladas de lóbulos ópticos (LO); 2) detección de fragmentación del ADN en

cortes de LO a distintos tiempos post-hipoxia. El tratamiento hipóxico no alteró ni la constante de disociación (K_d) ni el máximo número de sitios de unión (B_{max}) en los receptores de alta afinidad, pero redujo el B_{max} del sitio de baja afinidad en un 50%, sin modificar la K_d. Los embriones retornados durante una semana a una atmósfera normóxica mostraron que la reducción en el B_{max} se mantiene inalterada. Los ensayos de TUNEL revelaron un aumento significativo en el número de células picnóticas en los embriones hipóxicos vs controles, luego de 6, 12 y 24 hs. post-hipoxia. En conclusión, los resultados obtenidos a nivel celular indican que la hipoxia produce una reducción en el B_{max} del receptor NMDA, que se mantiene irreversible durante la embriogénesis. Los datos a nivel molecular sugieren que uno de los posibles mecanismos desencadenados por esta injuria sería un proceso de muerte celular programada.

- 129. (1098) ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL HEMO Y EL SISTEMA COLINERGICO INDUCIDAS POR EL ACIDO 5-AMINOLEVULICO.** MARTINEZ MARÍA DEL CARMEN, RODRIGUEZ Jorge Andrés, FOSSATTI Mariana, AZCURRA Julio, BATLLE Alcira, BUZALEH Ana María.

Ctro. de Inv. sobre Porfirinas y Porfirias, Laboratorio de Biología Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

El ácido 5-aminolevúlico (ALA) sería el responsable de las manifestaciones neurológicas de las porfirias agudas y de lesiones oxidativas en las membranas sinápticas de cerebro. Se estudiaron los efectos bioquímicos del ALA (40 mg/kg) sobre el metabolismo del hemo y el sistema colinérgico en SNC de ratones, luego del tratamiento agudo (1 dosis) y crónico (8 dosis). Luego del tratamiento agudo o crónico, se observó una acumulación de ALA en cerebro mayor del 60% (p<0,05; valor control (nmol): 2,47 \pm 0,70). La actividad de Hemo oxigenasa (HO) se indujo un 300 % (p<0,01) luego del tratamiento agudo y un 50% (p<0,05) luego de la administración en forma crónica del ALA. El tratamiento agudo no produjo variaciones significativas en las actividades de acetil (AChE) y butiril (BuChE) colinesterasas ni en el ALA sintetasa. Mientras que el ALA crónico redujo un 50% (p<0,05) la actividad de BuChE (Act. Esp. control 22,78 \pm 8,00). Las alteraciones de BuChE en SNC provocadas por la administración crónica de ALA sugieren que la droga estaría generando cambios importantes en el sistema colinérgico; alteraciones que podrían constituir la base bioquímica de los síntomas neurológicos de la porfiria hepática aguda. Un estudio más profundo implicó mediciones de colinesterasa y de los niveles de mAChR en corteza, cerebelo e hipocampo. El aumento en la actividad de HO indicaría una respuesta de los mecanismos de defensa antioxidante, confirmando indirectamente, el daño oxidativo causado por el ALA

ONCOLOGÍA II

- 130. (540) TERAPIA FOTODINÁMICA DE TUMORES: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACUMULACIÓN DE PORFIRINAS ADMINISTRANDO ÁCIDO 5-AMINOLEVULICO Y EL DERIVADO HEXIL ESTER POR DISTINTAS VÍAS.** PEROTTI CHRISTIAN, CASAS Adriana, DI VENOSA Gabriela, FUKUDA Haydée, BATLLE Alcira.

Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias (CIPYP)- CONICET y FCEyN, UBA

El ácido 5-aminolevúlico (ALA) es un precursor natural de porfirinas fotosensibles que se utiliza en la Terapia Fotodinámica de tumores (TFD). Los derivados ésteres, al ser más hidrofóbicos, se incorporarían con mayor eficiencia a las células y consecuentemente aumentarían la síntesis de porfirinas. A ratones Balb/c portadores del adenocarcinoma mamario LM3 se les administró ALA y el derivado hexil-ALA (He-ALA) por las vías tóptica, en crema o loción, e intraperitoneal (i.p.), en dosis de 5 a 30 mg. En todos los tejidos analizados, y con ambos compuestos, las porfirinas sintetizadas aumentaron en forma dosis dependiente, y la mayor acumulación ocurrió entre 3 y 5 h luego de la administración, dismi-

nuyendo a los valores basales a las 24 h. ALA en loción indujo una mayor síntesis de porfirinas que el ALA en crema (loción: $1,5 \pm 0,3 \mu\text{g porf/g tej}$, crema: $0,5 \pm 0,3 \mu\text{g porf/g tej}$, en tumor) en tanto que con He-ALA, tanto en crema como loción, no fueron significativamente superiores a los valores control. En cerebro, las porfirinas sintetizadas a partir de He-ALA por vía i.p. fue 7 veces mayor que a partir de ALA (ALA: $2,98 \pm 0,27 \mu\text{g porf/g tej}$, He-ALA: $0,27 \pm 0,03 \mu\text{g porf/g tej}$). Para ambas vías de administración, ALA y la vía i.p. fueron más efectivos que He-ALA y la vía tópica en inducir la síntesis de porfirinas.

- 131. (598) PARTICIPACION DE LA OXIDO NITRICO SINTASA (NOS) CONSTITUTIVA E INDUCIBLE EN LA VIABILIDAD DE CELULAS TUMORALES.** MURINAS MAGENTA GABRIELA, SALES María, DAVEL Lilia, SACERDOTE DE LUSTIG Eugenia, JANSNIS María.

Instituto de Oncología Angel H. Roffo, UBA

Anteriormente demostramos que la línea celular LMM3 expresa las enzimas NOS endotelial e inducible. Objetivo: determinar el rol de los macrófagos y de las distintas isoformas de NOS en la sobrevivencia de células LMM3. Metodología 1) Se cultivaron 8.000 células LMM3 en presencia de aminoguanidina (AG) y L-NAME, inhibidores de NOS inducible y constitutiva respectivamente; 2) Macrófagos peritoneales de ratones normales (MfN) y de portadores de tumor (MfT) se trataron con los mismos inhibidores y se co-cultivaron con las células LMM3 durante 24 horas. Resultados: AG disminuyó la producción de NO, medido por reactivo de Griess, ($10,03\text{mM} \pm 0,12$ vs. $5,5\text{mM} \pm 0,3$, $p < 0,01$) y la actividad metabólica de las células LMM3 (ensayo MTS) en un 47% ($p < 0,01$) mientras que el L-NAME inhibió sólo la producción de NO ($10,08\text{mM} \pm 0,59$ vs. $7,2 \text{mM} \pm 0,2$, $p < 0,01$) En el co-cultivo con MfT tratados con ambos inhibidores de NOS, se observó un aumento en la producción de NO (L-NAME: $7,5\text{mM} \pm 1,2$ vs. $13,68\text{mM} \pm 0,74$, $p < 0,001$; AG: $7,5\text{mM} \pm 1,2$ vs. $9,25\text{mM} \pm 0,39$, $p < 0,01$) que se correlacionó con mayor actividad metabólica de las células LMM3 (L-NAME: 83%, $p < 0,001$; AG: 67%, $p < 0,01$). Los MfN no modificaron ninguno de los parámetros analizados. En conclusión, en las células LMM3 el NO endógeno, proveniente principalmente de NOS inducible, y el NO exógeno liberado en el co-cultivo con MfT, actúan como factores de sobrevivencia pues los mayores niveles de NO se correlacionaron con mayor actividad metabólica.

- 132. (615) TRATAMIENTO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA SISTEMICA EN PORTADORES DE UN ADENOCARCINOMA DE PULMON.** MURINO PELUFFO GUILLERMO, CERCHIETTI Leandro, STILLITANI Isabel, NAVIGANTE Alfredo, KLEIN Slobodanka, DIAMENT Miriam.

Departamento Bioterio y Cáncer Experimental. Área Investigación. Instituto de Oncología "A.H. Roffo"

Estudiamos en un modelo de adenocarcinoma de pulmón murino P07, que presenta síndromes paraneoplásicos, leucocitosis y caquexia, si la inhibición de diferentes vías de la respuesta inflamatoria sistémica (RIS) podría afectar el desarrollo tumoral y los síndromes paraneoplásicos. Determinamos por inmunohistoquímica en cortes de tumor y metástasis la expresión de COX2 y PPARg, moduladores de la inflamación. Ratones portadores de tumor P07 fueron tratados oralmente con: a) indometacina, inhibidor inespecífico de COX (10ug/ml); b) celecoxib (Cxb) inhibidor específico de COX2 (1500ppm); c) esculetina, inhibidor de 5-/12-lipoxigenasa (LOX, 25mg/kg de peso); d) rosiglitazona, agonista de PPARg, y e) PUFA, ácidos grasos poli-insaturados n-3 (45mg/kg/día), f) PUFA+Cxb, g) Control. Los tratamientos disminuyeron la pérdida de peso corporal, siendo la disminución de peso (%) de: a- $18,2 \pm 17,6$; b- $4 \pm 12,5$; c- $4,1 \pm 8,2$; d- $16,1 \pm 8,7$; e- $19, \pm 10,6$; f- $7,3 \pm 14,3$, respecto de controles ($p < 0,01$). La leucocitosis disminuyó significativamente en los grupos tratados con Cxb e Indo (g: 70 ± 26 , a: 24 ± 12 , b: $34 \pm 15 \times 10^3$ leucocitos/ μl de sangre; $p < 0,05$). El tratamiento con Cxb y PUFA+Cxb inhibió el crecimiento tumoral ($p < 0,05$); Indo y Cxb disminuyeron el n° y tamaño de metástasis en pulmón ($p < 0,007$). Los resultados indican que los moduladores de la RIS están implicados en el control de la caquexia y la progresión

tumoral, y pueden constituir una herramienta eficaz en el tratamiento de los síndromes paraneoplásicos.

- 133. (617) MECANISMOS DE ACCIÓN ANTITUMORAL DE COMPLEJOS DE VANADIO.** MOLINUEVO MARÍA, BARRIO Daniel, CORTIZO Ana, ETCHEVERRY Susana.

Cátedra de Bioquímica Patológica, CEQUINOR. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

El vanadio ha demostrado tener efectos biológicos sobre diversos sistemas celulares. En particular, resulta interesante su capacidad como agente antitumoral. Sin embargo, el mecanismo de acción del vanadio no se conoce completamente. Dos complejos de vanadio, uno con glucosa (GluVO) y otro con naproxeno (NapVO), son potentes inhibidores de la proliferación de un osteosarcoma de rata (células UMR106), mostrando un débil efecto en osteoblastos no tumorales (MC3T3E1). En este trabajo se estudió la capacidad de estos complejos para inducir apoptosis midiendo la externalización de fosfatidilserina (PS) analizada por fluorescencia (FITC-AnexinaV), la formación de poros de membrana (yoduro de propidio) y la presencia de figuras apoptóticas (Giemsa). Además se estudió la formación de productos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARS) indicativos de estrés oxidativo. Los complejos de vanadio indujeron apoptosis, evidenciada por la externalización de PS, poros de membrana y figuras apoptóticas. Además indujeron la formación de TBARS ($180\text{-}400\%$ basal) en forma dosis-respuesta ($0,1\text{-}5 \text{mM}$). La producción de TBARS fue parcialmente inhibida (40% , $p < 0,01$) por una mezcla antioxidante de vitaminas E y C ($35 \mu\text{M}$). Sin embargo, estos antioxidantes no previnieron el efecto antiproliferativo de los complejos de vanadio en osteoblastos UMR106. En conclusión, el efecto antitumoral de los complejos de vanadio investigados sería mediado a través de mecanismos de apoptosis y no por estrés oxidativo.

- 134. (720) EL BACILO CALMETTE GUERÍN INDUCE LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN CELULAS DE CÁNCER DE VEJIGA.** THOMPSON SEBASTIÁN, TROVERO Alicia*, SANDES Eduardo, RIVEROS María Doris, ARGÜELLES Claudia*, CASABÉ Alberto Ricardo, EIJÁN Ana María.

*Instituto de Oncología Angel H. Roffo, Facultad de Medicina, UBA. *Instituto Nacional de Producción de Biológicos Carlos Malbrán*

La inmunoterapia con Bacilo Calmette Guérin (BCG) se utiliza en el tratamiento de pacientes con carcinoma superficial de vejiga de alto grado. Uno de los mecanismos de citotoxicidad sobre las células tumorales es la generación de óxido nítrico (NO) por células inmunes reclutadas en la vejiga. Estudiamos la acción directa de BCG sobre células de cáncer de vejiga humana (T24) y murinas (BMT2 y MB49). Las células tumorales fueron tratadas durante diferentes tiempos con BCG (2×10^6)- 4×10^3 unidades formadoras de colonias -UFC/ ml). Se evaluó: 1- la viabilidad celular por conteo celular y colorimétricamente (A492 nm) y 2- la producción de NO con el reactivo de Griess. Análisis estadístico ANOVA. BCG vivo o muerto por calor induce la producción de NO (T24: 30%, MBT2: 17%, MB49: 64%). BCG viva (10^6) UFC/ ml/ 24hs) inhibe el crecimiento de las células tumorales (T24: $C=231 \pm 19$, $BCG=183 \pm 7$; MBT2: $C=300 \pm 10$, $BCG=215 \pm 6$, MB49: $C=901 \pm 14$, $BCG=752 \pm 19$; $p < 0,05$) no revertido por un inhibidor de la producción de NO (L-NAME). Estos resultados muestran que BCG induce la producción de NO en células de cáncer de vejiga. La magnitud de la producción parece depender de cada célula. Sólo BCG viva induce la muerte de las tres líneas tumorales independientemente de la producción de NO. Así se plantea la hipótesis de que el NO generado por las células tumorales en respuesta al tratamiento por BCG podría in vivo generar inmunosupresión que explicaría el fracaso de este tratamiento en algunos pacientes

- 135. (735) EXPRESIÓN DE CATEPSINA B Y PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES CON CARCINOMA TRANSICIONAL DE VEJIGA.** SANDES EDUARDO, RIVEROS María Doris, THOMPSON Sebastián, CASABÉ Alberto Ricardo, EIJÁN Ana María.

Instituto de Oncología Angel H. Roffo, Facultad de Medicina, UBA

Anteriormente demostramos niveles elevados de catepsina B (CB) en plasma y en orina de pacientes con carcinoma transicional de vejiga (CTV). Estos pacientes también presentan niveles elevados de óxido nítrico (NO) en orina. Dado que los niveles plasmáticos del factor de crecimiento insulínico de tipo uno (IGF-I), están elevados en pacientes con CTV, quisimos investigar si este factor estimula la expresión de CB y NO en linfomonocitos (LMO) de estos pacientes. Se aislaron LMO de 9 pacientes con CTV (previo consentimiento informado) y 8 controles sanos, apareados por sexo y edad. Los LMO se cultivaron durante 48 hs con y sin IGF-I (5 nM). El NO (μM) se determinó con el reactivo de Griess en los medios condicionados. La CB ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína), se determinó por la técnica de Western blot en lisados de LMO. Los datos se informan como mediana (rango), considerando significativo * $p < 0.05$ por un test de muestras apareadas. El IGF-I induce un leve aumento de CB y NO en el grupo control [CB: 2.9 (0-5.7) vs 3.8 (0.6-7.5); NO: 0.1 (0-5.1) vs 1.5 (0-13.0)]. Por el contrario en pacientes con CTV se detecta incremento en CB [2.7 (0-15.9) vs 5.4(0-16.5)*] y de NO [0.1 (0-2.6) vs 3.32 (0-7.5)*] luego del agregado del factor. Nuestros resultados sugieren que el IGF-I podría ser el responsable del incremento de CB y NO observado en pacientes con CTV.

136. (833) INDUCCION EXPERIMENTAL DE PILOMATRIXOMAS POR EL VIRUS POLIOMA MURINO. VILLAN OZUNA PAOLA, *CASAS José, SANJUAN Norberto.

*Departamento de Microbiología, *Centro de Patología Experimental. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UBA*

El virus poliovirus murino puede inducir neoplasias originadas en 14 tipos celulares distintos cuando es inoculado en ratones neonatos de la cepa C3H BiDa. Algunas de esas neoplasias no han sido hasta hoy estudiadas, entre ellas las originadas en el folículo piloso. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el desarrollo de estos tumores, relacionando especialmente el estado en que se encuentra el virus intratumoral con la maduración celular. Se inoculó subcutáneamente a la cepa de poliovirus PTA en ratones C3H BiDa de menos de 48 hs de vida. A los 3 meses los animales fueron sacrificados y los tumores subcutáneos (posiblemente originados en el folículo piloso) fueron estudiados por histología, inmunocitoquímica y microscopía electrónica. La presencia de poliovirus fue, además, detectada por western blot contra la proteína mayor de la cápside VP-1, y por infección de células NIH-3T3. Los tumores resultaron ser histológicamente pilomatricomas originados de células matriciales pilosas que más tarde se cornifican. Estas neoplasias se observaron en el 100% de los animales, tanto machos como hembras. Abundantes partículas virales estaban presentes en 1 de cada 8 células y el virus fue recuperado en forma infecciosa de los extractos tumorales. La cantidad de partículas virales observadas fue mucho mayor que las presentes en otras neoplasias inducidas por el mismo virus. Se concluye que poliovirus aumenta su replicación en paralelo a la queratinización celular, como el Virus Papiloma Humano.

137. (995) ALTERACION EN LA ACUMULACION DE LA PROTEINA MAYOR DE LA CAPSIDE DEL VIRUS POLIOMA MURINO CONSECUTIVA A LA INHIBICION DE KINESINA. PORRÁS ANALÍA, SANJUAN Norberto.

Laboratorio de Patología Experimental. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA

El poliovirus murino es un virus transformante que infecta células NIH 3T3 en forma productiva. La infección de estas células depende de la integridad del sistema de microtúbulos ya que el tratamiento con drogas antimitóticas impide la infección por poliovirus, mientras que la disrupción de las fibras de actina no tiene efecto evidente en la progresión de la misma. En este trabajo se evaluó como hipótesis que la migración intracelular del virus está mediada, al menos en parte, por las proteínas motoras asociadas a los microtúbulos. Se observó la progresión de la infección en células

tratadas con oligonucleótidos antisentido contra kinesina (anti cadena pesada) y en células sin tratamiento. El seguimiento de la infección se realizó por inmunofluorescencia indirecta doble para la proteína mayor de la cápside VP-1 y para tubulina. Las muestras tratadas evidenciaron un cambio en el patrón de marcación de VP-1: a diferencia de la marcación nuclear observable en las células control, las células tratadas con anti-kinesina mostraron una marcación de VP-1 en forma de grandes vesículas citoplasmáticas localizadas preponderantemente en el espacio perinuclear. La inhibición de la kinesina en células tratadas con el oligonucleótido antisentido podría resultar en la localización aberrante de la proteína viral o, más probablemente, en la alteración del transporte de la proteína VP-1 sintetizada de novo.

138. (1018) INHIBICIÓN CON ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDES (AINEs) DE LA PROLIFERACIÓN, INVASIÓN Y PRODUCCIÓN DE MEDIADORES INFLAMATORIOS EN CELULAS DE UN ADENOCARCINOMA DE PULMON MURINO. PELUFFO GUILLERMO DANIEL, DIAMENT Miriam, CERCHIETTI Leandro, RANUNCOLO Stella, STILLITANI Isabel, GUTHMANN Marcelo, NAVIGANTE Alfredo, KLEIN Slobodanka.

Instituto de Oncología AH Roffo Área Investigación, Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas

El tratamiento de portadores de adenocarcinoma de pulmón murino P07 con AINEs, indometacina y celecoxib, disminuye el crecimiento tumoral y metastásico, e inhibe síndromes paraneoplásicos. Para estudiar algunos mecanismos implicados se determinó la acción de los AINEs sobre factores séricos y linfocitos B de portadores de P07 y sobre células LP07 in vitro. Métodos y resultados: (C: Control, I: indometacina, X: celecoxib; * $50\mu\text{M}$, ** $25\mu\text{M}$, *** $10\mu\text{M}$). MMP9 plasmática (zimografía, UA/ml): C:5.57 \pm 3.81; I:0.35 \pm 0.22 ($p < 0.05$). IL1 β sérica (ELISA, pg/ml): C:34.0 \pm 3.3; I:21.5 \pm 3.3 ($p < 0.05$). GM-CSF sérica, (ELISA, pg/ml): C:62.6 \pm 0.1; X:40.7 \pm 0.5. Linfocitos B esplénicos (FACScan, %): C:29.8; I:23.1. Linfocitos B en tumor (FACScan, %): C:18.6; I:4.1. Proliferación (MTS, %): C:100 \pm 6.8; I:69.8 \pm 6.8* ($p < 0.05$); X:62.6 \pm 6.7** ($p < 0.001$). Migración (Wound-repair, %): C:100 \pm 11.3; I:34.4 \pm 13.5** ($p < 0.05$). Invasión (Transwell, %): C:100 \pm 9.5; I:41.1 \pm 1.1*** ($p < 0.05$); X:45.3 \pm 13.6*** ($p < 0.05$). La inhibición de la proliferación, migración e invasión in vitro y la disminución de los niveles de MMP9 por el tratamiento con AINEs serían responsables de la inhibición de metástasis de los portadores de P07 tratados. La disminución de los niveles de GM-CSF correlaciona con la inhibición de la leucocitosis. La disminución de la población de linfocitos B, aumentada en la inflamación crónica, y los niveles menores de IL1 β pueden dar cuenta del efecto beneficioso de los AINEs en el tratamiento de la caquexia asociada a la portación del tumor.

139. (1038) ALTERACIÓN DE LOS NIVELES DE LA MOLÉCULA DE ADHESIÓN NEURAL NCAM EN EL SUERO DE PACIENTES CON TUMORES DE CEREBRO. TODARO LAURA, VARELA Mirta, PALLOTA Guadalupe, LASTIRI José, LINCUEZ Emilia, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa, SACERDOTE DE LUSTIG Eugenia, PURICELLI Lydia.

Area Investigación del Instituto de Oncología "A. H. Roffo" Servicio de Oncología Clínica, Hospital Italiano de Buenos Aires.

NCAM se expresa en el neuroectodermo, mesénquima y tumores derivados. Se halla en suero pero se desconocen sus niveles en distintos estados patológicos. Objetivo: estudiar la NCAM sérica en pacientes con tumores cerebrales [gliomas (n=34), metástasis única (n=27), tumores benignos (n=22)] en comparación con la población control (n=69). NCAM se cuantificó por Western blot y densitometría usando un mAAb que revela bandas específicas de alto (HMW>130kDa) y bajo PM (LMW). Se encontró que HMW aumenta mientras que LMW disminuye en la población tumoral ($p < 0.01$), por lo cual el cociente HMW/LMW está aumentado en los pacientes con tumores cerebrales vs controles sanos ($p < 0.001$). En base a este cociente se eligió el nivel de NCAM del percentil 80 de la población control como valor de corte. Se encontró que 17/33 (52%) pacientes con gliomas, 16/27 (59%) con metástasis y 15/22 (68%) con

tumores cerebrales benignos presentan valores elevados de HMW/LMW respecto de los controles (14/69, 20%) ($p < 0,01$), siendo estas diferencias independientes de la edad y sexo. NCAM sérico mostró una especificidad del 80% y una sensibilidad del 60% para identificar pacientes con tumores cerebrales. Por otro lado, los niveles de HMW/LMW no predijeron la sobrevida global en los pacientes con cáncer. Si bien se encontró aumento en la relación HMW/LMW de NCAM sérico asociado a la patología tumoral cerebral, no se pudo discriminar entre tumor maligno o benigno.

- 140. (1040) OBSERVACIONES DE LA PRESENCIA DE MASTOCITOS DE DISTINTO FENOTIPO EN CANCER DE COLON.** MAURO LAURA, PURICELLI Lydia, ROCA Fernanda, LASTIRI José, BONADEO Fernando, PALLOTA Guadalupe, LAURÍA Lilia.

Area Investigación. Instituto de Oncología "A. H. Roffo" Dpto. de Oncología Clínica Hospital Italiano de Buenos Aires, Lab. de Histología Animal FCEyN, UBA

Los mastocitos (MC) están íntimamente asociados a patologías tumorales, pero su rol funcional es controvertido. Liberan mediadores como quimasa (q) y triptasa (t) relacionados con la inducción de la angiogénesis y la invasión tumoral, definiéndose los fenotipos MCt y MCq. Analizamos los MC y microvasos (MV) presentes en colon humano normal (N), tejido peritumoral (PT) y cáncer de colon (T) en cortes histológicos de pacientes sin tratamientos previos ($n=22$; 12 Duke B, 10 Duke C), con inmunohistoquímica usando mAb específicos para ambas enzimas y CD34 para los MV. Se evaluó el número de MC y de MV bajo microscopio a 100x refiriéndolos a 1.2 mm². En todos los casos se encontró una disminución de MC intratumorales respecto del tejido peritumoral ($p < 0,001$). El fenotipo MCt fue mayor que MCq en N, PT y T ($p < 0,001$). En los Duke C se encontró una disminución de MCt con respecto a los Duke B (36,11±31,0 vs 67,75±28,8; $p < 0,05$) y a la zona PT. Se observaron áreas triptasa positivas en T asociadas a MC totalmente desgranulados, no observables a 100x. El número de MV fue proporcional con el número de MCt registrados en cada zona. Estos resultados sugieren que los MCt estarían involucrados en la modulación del desarrollo tumoral. Los de la zona PT también podrían contribuir a la progresión del tumor, complementando a los ya desgranulados de la zona T. La fluctuación del número de MV paralela a la de los MCt apoya el rol angiogénico de esta proteasa.

- 141. (1074) LA HISTAMINA REGULA LA VIA DE LAS MAPK A TRAVÉS DEL RECEPTOR H2 EN LA LINEA CELULAR DE CARCINOMA PANCREÁTICO HUMANO PANC-1.** MARTÍN GABRIELA, CRICCO Graciela, MEDINA Vanina, NUÑEZ Mariel, COCCA Claudia, GUTIERREZ Alicia, BERGOC Rosa, RIVERA Elena.

Laboratorio de Radioisótopos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires

Las PANC-1 sobreexpresan receptores RH1 y RH2 a Histamina (Hi). La estimulación de RH2 por Hi a altas dosis ($>1 \mu\text{M}$) aumenta el AMPc e inhibe el crecimiento celular arrojando las células en G0/G1 sin inducir apoptosis y activando parcialmente la diferenciación. Por el contrario, la Hi a bajas dosis estimula la proliferación celular. En este trabajo se estudió la interacción entre RH2, AMPc y vías de MAPK. Se evaluó la proliferación por el método clonogénico en presencia de Hi 10 μM (38%), H89 inhibidor de PKA 250 nM (98%), Forskolina 5 μM (45%), Fk+H89 (78%), $p < 0,05$ vs control (100%). Se estudió por inmunoblot la expresión de FOS y MYC, p38 y ERKs activadas. Los niveles de FOS resultaron altos y desregulados mientras que MYC aumentó en presencia de SFB y no se modificó con los tratamientos. La inhibición de la proliferación con Hi y Fk se correlacionó con una disminución en la expresión de ERK1/2 y un aumento de p38. Se concluye que en las PANC-1 la producción de AMPc a través de RH2, con la consecuente activación de PKA, modularía las vías de MAPK inhibiendo la proliferación celular por interacción entre p38 y ERKs. El balance resultante de la activación de estos caminos por estimulación de los receptores a Hi determinaría el grado de crecimiento en estas células de carcinoma pancreático.

REPRODUCCIÓN I

- 142. (531) EFECTO DEL AYUNO SOBRE EL PROCESO DE OVULA-**

CIÓN DE LA RATA. ROMAN ERNESTO, RICCI Analía, ANTICO-ARCIUCH Valeria, FALETTI Alicia.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CONICET)

La leptina representa una señal crítica para las adaptaciones neuroendócrinas al ayuno o a las malas condiciones nutricionales. En este trabajo estudiamos el efecto de bajos niveles de leptina producidos por ayuno (ya demostrado) sobre el proceso ovulatorio en la rata. Ratas prepúberes tratadas con PMSG/hCG para inducir la ovulación, fueron sometidas al ayuno por 48 h, disminuyendo su masa corporal (22%), no así la ovárica. La tasa ovulatoria, determinada por el número de ovocitos presentes en oviductos, fue mayor en animales con ayuno (A: 45.6±3.5) que en animales controles (C: 32.8±2.8; $p < 0,01$). La administración exógena de 3 dosis de leptina (5 μg c/u) durante el proceso ovulatorio a ratas con dieta alimentaria normal disminuyó la tasa ovulatoria (L: 21.5±2.5) con respecto a los controles, y este mismo tratamiento a ratas sometidas al ayuno revirtió el aumento producido por el ayuno (A+L: 24.5±2.4; $p < 0,01$ vs A). Dado que el óxido nítrico (NO) es uno de los factores que favorece el proceso ovulatorio, determinamos su producción mediante el estudio de la actividad de la óxido nítrico sintasa. En ratas sometidas al ayuno se observó mayor producción de NO (expresada en pmol NO/min.g) que en controles (C: 9.4±0.4, A: 12.9±0.7, $p < 0,01$) y la administración exógena de leptina revirtió este aumento (A+L: 10.1±0.9, $p < 0,05$ vs A). Estos resultados revelan una clara intervención de la leptina en el proceso ovulatorio de la rata, al menos en parte alterando la producción de NO ovárico.

- 143. (634) EFECTO DE LOS AGONISTAS (A) Y ANTAGONISTAS (ANT) DE GNRH SOBRE LA APOPTOSIS Y PRODUCCIÓN DE IL-1 Y VEGF EN CULTIVOS DE ENDOMETRIO DE PACIENTES CON ENDOMETRIOSIS (EDT).** MERESMAN GABRIELA, BILOTAS Mariela, LOMBARDI Eduardo, TESONE Marta, SUELDO Carlos, BARANAO Rosa Ines.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los GnRH a y GnRHant sobre la apoptosis y liberación IL-1 y VEGF en cultivos de células epiteliales de endometrio eutópico (EEC) de pacientes con EDT y controles (C). Se emplearon cultivos de EEC de 16 pacientes con EDT y 14 C (sin EDT). Los cultivos se trataron con Acetato de Leuprolide (LA) 100 ng/ml como GnRHa, con Antide (A) 10 ((-))M como GnRHant o con ambos. Los % de células apoptóticas (ApC) se determinaron con naranja de acridina-bromuro de etidio y los niveles de IL-1 y de VEGF, por ELISA. Las comparaciones entre los grupos se realizaron por el test de ANOVA. El LA incrementó los % de ApC en EEC de pacientes con EDT (23,9±8,0 a 41,7±9,6%, $p < 0,01$) y de C (18,2±6,3 a 42,5±14,7%, $p < 0,05$). Disminuyeron los valores de IL-1 en EEC de EDT: 223±56 (basal) vs 83,6±16,3 pg/ml con LA, $p < 0,05$, y los de VEGF: 283,64±83,9 (basal) vs 134,4±37,3 pg/ml con LA, $p < 0,04$. Los valores de IL-1 en C fueron 201,5±58,6 (basal) vs 98,1±54,8 pg/ml con LA, $p < 0,03$ y los de VEGF: 201,5±58,6 (basal) vs 96,1±54,8 pg/ml con LA, $p < 0,03$. Los cultivos tratados con A no difirieron de los basales, pero el agregado de A a ECC pre-tratadas con LA, revirtió el incremento de los % de ApC y la disminución de IL-1 y VEGF. Los GnRH a en EEC aumentan el % de ApC y disminuyen la liberación de citoquinas pro-mitogénicas como la IL-1 y el VEGF. Los GnRHant por si solos no producen ningún cambio significativo pero revierten los efectos causados por el GnRHa.

- 144. (664) REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS LIPOGÉNICAS EN RATAS PREÑADAS A TERMINO, EFECTO DEL HIPOTIROIDISMO.** HAPON M. BELÉN, VARAS Silvia M., JAHN Graciela A., GIMENEZ María S.

Laboratorio de Reproducción y lactancia, IMBECU, CRICYT, CONICET, Cátedra De Bioquímica Molecular, Fac. De Química, Bioquímica y Farmacia, Univ. Nac. De San Luis

En estudios previos encontramos que el hipotiroidismo (hipoT) inducido por PTU (0.01 % en el agua de bebida), produce una disminución en la actividad de las enzimas lipogénicas ACC y FAS, en la síntesis y contenido de lípidos en la glándula mamaria e hi-

gado de ratas al final de la gestación, así como variaciones en los lípidos circulantes. Estos cambios pueden deberse a cambios inducidos por el hipoT en la expresión de las enzimas claves del metabolismo lipídico de estos órganos. Usando RT-PCR semicuantitativo determinamos la expresión de las enzimas involucradas en la regulación de la lipogénesis: ACC, FAS, GPAT, ACO y CPT, expresándolas en relación a β Actina a partir de RNAs obtenidos de Hígado (H) y Glándula Mamaria (GM) de ratas en día 21 de gestación, controles e hipoT. El hipoT produjo caídas en la expresión de FAS y ACC en ambos tejidos (H: ACC: Co: 0.67 ± 0.05 ; HipoT 0.33 ± 0.06 , $p < 0.05$; FAS: Co 1.25 ± 0.17 ; HipoT: 0.69 ± 0.14 , $p < 0.05$; GM: ACC: Co: 1.40 ± 0.27 ; HipoT: 0.76 ± 0.16 , $p < 0.05$; FAS: Co: 0.97 ± 0.13 HipoT: 0.49 ± 0.04 , $p < 0.05$) y en ACO en hígado (Co: 0.52 ± 0.05 , HipoT: 0.31 ± 0.04), sin diferencias en las demás enzimas. En concordancia con los resultados anteriores, el hipotiroidismo inhibe la expresión de las enzimas lipogénicas. Sin embargo, no podemos descartar la posibilidad de que los niveles elevados de progesterona observados en las ratas hipoT tengan un rol en la inhibición de la lipogénesis en la glándula mamaria.

- 145. (704) DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINA G EN SUERO, TEJIDO Y EXTRACTOS PLACENTARIOS PORCINOS.** KONCURAT MIRTA, GARRO Adriana, YAFUL Graciela, WILLIAMSON Delia, LACOLLA Daniel, RIESCO Oscar.

Facultad Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Pampa

El cerdo posee IgG (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 e IgG4), IgM, IgA e IgE, habiéndose demostrado gran homología de secuencia entre las IgGs porcinas y humanas. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de IgG porcinas en muestras de suero y extractos placentarios de cerdas vacías y preñadas de 30 y 93 días de gestación y tejido placentario a término. Por proteinograma electroforético, en sueros de 15 animales los valores medios de [IgG] mg/ml estuvieron en rangos normales (23 - 16,2 mg/ml) observándose el típico descenso de IgG al final de la preñez. Por inmunodifusión radial, utilizando placas comerciales de agar calibradas para establecer la concentración de IgG humanas, pudo determinarse la [IgG] en Sueros: Cerdas vacías: 26,88mg/ml; Cerdas 30 días 29,88mg/ml y en Cerdas 91 días 19,24 mg/ml. Los valores en Extractos Placentarios fueron: a) Homogenatos de útero vacío: 3,40 mg/ml; Homogenatos de Placentas (HoPP) de 30 días: 1,81 mg/ml y en HoPP de 93 días: 1,50 mg/ml; b) sobrenadantes de Medios de Cultivo de Células Placentarias (MCP) de 30 días: 2,11 mg/ml y MCP de 93 días de gestación: 1,20 mg/ml. Por inmunofluorescencia directa, utilizando un anticuerpo anti-IgG humano marcado con FITC, se observó fluorescencia (+) en cortes desparafinados de placenta porcina a término, en las vellosidades coriónicas fetales en contacto con el lumen uterino. Probablemente dichos anticuerpos pertenezcan al tipo de anticuerpos protectores, asimétricos, descritos en mujer y ratón.

- 146. (707) FUNCIONALIDAD OVARICA DURANTE LA PREÑEZ TEMPRANA.** REARTE MARÍA BARBARA, SANDER Valeria, TOGNETTI Teresita, ESTEVEZ Alejandra, FARINA Mariana, MOTTA Alicia.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

En el presente trabajo se estudió la funcionalidad ovárica durante el período perimplantatorio en ratones hembras BALB/c preñados (implantación día 4). Las células endoteliales presentes en el ovario intervienen en la funcionalidad luteal, sin embargo no se conoce su función en preñez temprana. Se tomaron ovarios de los días (D) 2-6 de preñez donde se evaluó: prostaglandina E (PGE) por RIA, la expresión del receptor de endotelina-1 (ET1) y ciclooxigenasa (COX) I (constitutiva) y II (inducible) por inmunoblot. En suero se midió progesterona (P) y estradiol (E) por RIA. La PGE disminuyó en el período perimplantatorio: D2=710 \pm 32, D3=555 \pm 38, D4= 454 \pm 33, D5=299 \pm 48, D6=628 \pm 47 pg/mg tejido. La expresión de receptores ET1 también disminuyó durante los días 3 y 4 para luego aumentar en el día 6 nuevamente. No se encontró expresión

de COX II, pero sí se expresó COX I, que no varió. La P fue de D2=5 \pm 1, D3=21 \pm 5, D4=45 \pm 9, D5=4 \pm 1, D6=24 \pm 6 ng/ml suero y el E: D2=9 \pm 4, D3=26 \pm 6, D4=46 \pm 9, D5=22 \pm 4, D6=47 \pm 7 ng/ml suero. Conclusiones: la PGE (generada aparentemente por COX I), disminuye durante el período perimplantatorio. Los receptores para ET1 disminuyen durante la implantación, estos resultados concuerdan con resultados previos en los cuales dichos receptores se regularían por PGs. El E y la P aumentan durante dicho período, probablemente para facilitar cambios morfológico uterinos esenciales durante el proceso de implantación.

- 147. (968) CONVERSIÓN CORTISONA-CORTISOL POR EL FOLÍCULO PREOVULATORIO EN MONAS CEBUS (CEBUS APELLA). INFLUENCIA DE LA LUTEINIZACIÓN.** LAHOZ MÓNICA, NAGLE Carlos, PORTA Margarita, MENDIZÁBAL Armando.

Centro de Reproducción Humana y Experimental del CEMIC, Buenos Aires

Las isoenzimas 11-b-hidroxiesteroide-dehidrogenasa I y II regulan la interconversión del cortisol (C) - cortisona inactiva durante la luteinización, in vitro. Para evaluar in vivo la capacidad folicular de activar la producción de C local desde cortisona, a 9 monas Cebus, en fase periovulatoria se les inyectó cortisona (1 ug:5ul) intrafolicularmente (n=6) ó su vehículo (n=3). Se determinaron por RIA los niveles de C, estradiol (E) y progesterona (P) en plasma de vena femoral (VF), de vena ovario ovulatorio (VOO) y vena ovario no ovulatorio (VONO) pre-cortisona y 15 minutos pos-cortisona. Las venas ováricas mostraron niveles de C superiores a los de VF= $124 \pm 14,4$ ug%; VOO $158 \pm 15,7$ ug%; VONO $146 \pm 22,9$ ug% (NS); el C fue mayor en el ovario con folículos sin luteinizar (VOO con P < 20 ng/ml $170 \pm 29,1$ ug% vs VOO con P > 20 ng/ml 143 ± 11 ug%, NS), con correlación positiva entre los valores de C y el E periférico (VOO $r=0,88$) antes de la ruptura folicular. Pos inyección de cortisona se observó un significativo aumento del 38% respecto al valor basal del C en VOO de hembras con P < 20 = 298 ± 101 ug% ($p < 0,01$). En los controles y en el grupo con P > 20 hubo una disminución del 11 al 19 % respectivamente. Se concluye que hay una activa conversión de cortisona a C por el ovario ovulatorio relacionado a la presencia del folículo dominante y que el proceso de luteinización pre-ruptura folicular disminuye la capacidad formadora de C.

- 148. (1016) EFECTO DEL EGF IN VIVO SOBRE LA SÍNTESIS DE PGS Y NO EN MEMBRANAS FETALES DE RATA.** RIBEIRO MARÍA, OGANDO Diego, FARINA Mariana, CELLA Maximiliano, FRANCHI Ana.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

Introducción. Se ha observado una correlación importante entre la infección intrauterina y el parto pre-término, el cual se encuentra asociado a un aumento en la producción de prostaglandinas (PGs) en los tejidos gestacionales. El Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), que se encuentra aumentado en líquido amniótico de mujeres con infección o en trabajo de parto, es uno de los posibles mediadores de la estimulación de las PGs por las membranas fetales. El EGF in vitro aumenta la síntesis de PGs mediado por el óxido nítrico (NO) en útero de rata estrogenizada. Objetivo. Estudiar si el EGF in vivo es capaz de afectar la producción de PGs y NO en membranas fetales. Métodos. Ratas hembras Wistar son tratadas i/a con 500 ng de EGF o sc. salina (controles) en el día 21 de preñez. Los animales se sacrifican en el día 22 (parto a término). Se determina PGs (RIA), NO (nitratos, técnica de Greiss), expresión de proteínas (Western blot). Resultados. La administración i/a de 500 ng EGF en el día 21 de preñez: - aumenta la síntesis de PGF2a (1196 ± 118 vs 819 ± 31 pg/mg proteína) y de PGE2 (1322 ± 101 vs 1092 ± 36). - disminuye la síntesis de NO (2.6 ± 0.1 vs 4.2 ± 0.4 mM NO2+NO3/mg proteína). - no afecta la expresión de la ciclooxigenasa-II (enzima responsable de la síntesis de PGs) ni de ninguna isoforma de la NO sintasa (responsable de la síntesis de NO). Conclusión. El EGF podría ser uno de los reguladores de la síntesis de PGs y NO, dos importantes mediadores de la preñez y el parto.

- 149. (1069) INHIBINAS: MARCADORES DEL DESARROLLO FOLICULAR DURANTE LA AMENORREA DE LA LACTANCIA?** TRIGO ROMINA VERÓNICA, VELÁSQUEZ Ethel Virginia, CROXATTO Horacio Bruno, CAMPO Stella.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas Instituto Chileno de Medicina Reproductiva

La amenorrea de la lactancia se asocia con quiescencia ovárica e infertilidad; niveles normales de FSH y estrógenos detectables en circulación sugieren la presencia de folículos en desarrollo. El objetivo de este trabajo fue determinar el perfil de inhibinas séricas durante la amenorrea y la fase folicular de los ciclos post-amenorrea. Se incluyeron 8 mujeres en amenorrea y lactancia absoluta. Dos muestras de sangre fueron obtenidas durante la amenorrea entre los 60 y 90 días post-parto (A), una en la fase folicular temprana (FFT, días 2-4) y una en la fase folicular media (FFM, días 7-11) del 2º y 3er ciclo menstrual post-parto. Se determinó inhibina A, B (Inh B), Pro-aC y FSH (ELISA); E2 y PRL (RIA). El número de folículos (nºf) se determinó por ultrasonografía. No se detectó inhibina A. Los niveles de Inh B fueron similares en A y FFT (46.4±9.7 y 49.2±10.8 pg/ml, respect); se observó un incremento en FFM (130.6±14.2 pg/ml, p<0.001). No se observaron diferencias en Pro-aC y E2 en A, FFT y FFM. Los niveles de FSH en A y FFM fueron similares. Los niveles de PRL y el nºf fueron más altos en A respecto de FFT y FFM (p<0.01). Se observó una correlación inversa entre Inh B y PRL durante A y FFM (r= -0.544 y r= -0.572, respect, p<0.05). Los niveles normales de FSH concomitantes con niveles disminuidos de Inh B en presencia de un mayor número de folículos sugiere un limitado desarrollo folicular con menor respuesta al estímulo gonadotrófico. Financiado por ICMER, PROGRESAR y PLACIRH.

- 150. (1089) LA PROGESTERONA (P) REGULA LA EXPRESION DE SU RECEPTOR (PR) EN UTERO DE RATA DURANTE LA PREÑEZ.** WEISSMANN CARINA, FARINA Maríana, RIBEIRO María, FRANCHI Ana.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos

Introducción: La P participa en el mantenimiento de la quiescencia uterina durante la preñez. La P ejerce su efecto por unión a su receptor (PR). PR presenta dos isoformas: PR-A y PR-B. Mifepristone (RU-486) se une PR y muestra efectos antiprogéstágenos in vivo. Objetivo: Determinar el rol de la P en la regulación de PR-A y PR-B en útero de rata durante la preñez. Materiales y Métodos G1: Ratas en día 5-13-18-21-22 de preñez, no preñadas y 24 hs post parto. G2: Ratas de día 12 de preñez administradas con RU-486 2,5 mg y sacrificadas 24 hs después. G3: Ratas administradas con P 2mg/12hs en día 20 y 21 de preñez, sacrificadas en día 22. G4: Ratas OVX recibieron: a) P 4 mg/rata; b) estradiol 1ug y fueron sacrificados 18 hs después. Se determinó la concentración de P sérica (RIA). La expresión de PR-A y PR-B fue determinada por Western Blot. Resultados: El nivel de P se encuentra elevado durante la preñez y decrece hacia el momento del parto. La expresión de PR-A acompaña el perfil de síntesis de P. La expresión de PR-B fue estable durante la preñez. RU-486 no modifica la expresión de ninguna de los dos isoformas del receptor mientras que los animales tratados con P muestra un incremento en la expresión de PR-A. El estradiol aumentó la expresión de PR-A y PR-B. Conclusión: La P regula positivamente la síntesis de PR-A, mientras que no afecta a PR-B. La caída en el nivel de P y la disminución en la expresión de PR-A al final de la preñez podrían facilitar el inicio del parto.

- 151. (1105) EL OXIDO NITRICO INCREMENTA LA SINTESIS DE PGF2A Y DISMINUYE LA PRODUCCION DE PGE2 EN MEMBRANAS FETALES HUMANAS.** FARINA MARÍANA, RIBEIRO María, WEISSMANN Carina, MOTTA Alicia, DI GIROLAMO Guillermo, LOMBARDI Eduardo, FRANCHI Ana.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Segunda Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, UBA, IFER

Introducción: Es reconocido que las membranas fetales humanas (MFH) producen gran cantidad de prostanoideos hacia el

momento del parto, pero los factores que regulan su biosíntesis aún no han sido dilucidados. Las prostaglandinas (PGs) y el óxido nítrico (NO) pueden interactuar en diferentes tejidos para producir una respuesta fisiológica o patológica. Objetivo: Determinar si el NO es capaz de modular la síntesis de PGs en MFH de mujeres con cesárea a término. Materiales y Métodos: Explantes de MFH fueron cultivados durante 24 hs en presencia o ausencia de LPS (1ug/ml), LPS + L-NAME (1mM); LPS + Aminoguanidina (500uM); LPS + Meloxicam (inhibidor de la ciclooxigenasa-2, 10-7M); o un dador de NO (NOC-18, 2mM). En el sobrenadante se determinó la producción de PGE2 y PGF2a por RIA y de nitritos por Griess. Resultados: El LPS produjo un aumento en la producción de PGF2a (1530±124 pg/ml vs C: 527±70, p<0.05) y de la PGE2 (2518±98 vs C: 1071±108, p<0.05). Este efecto fue bloqueado tanto por el L-NAME como por el Meloxicam. El LPS no modificó la síntesis de nitritos (8±1uM vs. C:9±1); mientras que la coincubación con L-NAME produjo una importante disminución (4±1, p<0.05). El NOC-18 produjo un aumento de la PGF2a junto a una disminución de PGE2 (PGF2a/PGE2 C:0.41vs NOC-18: 3.3). Conclusión: El NO estaría regulando en forma diferencial la síntesis de PGs de las MFH, favoreciendo la producción de PGF2a, prostaglandina contractora del miometrio.

CARDIOLOGÍA I

- 152. (789) STENTS RECUBIERTOS CON IRINOTECAN ATENUAN LA PROLIFERACION NEO-INTIMAL EN AORTAS DE CONEJOS HIPERCOLESTEROLEMICOS.** GONZÁLEZ GERMÁN, BERROCAL Daniel, MORALES Celina, GRINFELD Liliana, GELPI Ricardo.

Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UBA. Servicio de Hemodinamia y Cardiología Intervencionista del Hospital Italiano de Buenos Aires

Los stents recubiertos con citostáticos reducen la proliferación intimal (PI). Sin embargo, el efecto del irinotecan sobre la PI es desconocido. Objetivo: evaluar en conejos hipercolesterolémicos el efecto de stents recubiertos con irinotecan sobre la PI. Métodos: 24 conejos alimentados con una dieta hipercolesterolémica (0.5 % de colesterol) fueron sometidos a una angioplastia con balón mediante la cual se implantaron stents en la aorta. Se realizaron 3 grupos (G): G1 (Control (C); n=7), stents sin droga, G2 (n=7) y G3 (n=9) stents con dosis baja (46.5 µg) y alta (1.29 mg) de irinotecan. Los animales se sacrificaron a los 45 días y la aorta con stent fue procesada para su evaluación histológica y morfométrica. Se evaluó la presencia de necrosis (N), fibrina intimal (F), hemorragia (H), macrófagos (M) y edema (E) en forma semicuantitativa (0 a 3+). X±SEM. Resultados: la PI fue menor en G3 (45.4 %). *P<0.05 vs G1

	PI	N	F	H	M	E
G1	207.9±31.6	0	0.5±0.2	0	1.14±0.15	0
G2	156.3±36.5	0	0.75±0.29	0	0.75±0.29	0
G3	113.4±17.2*	0	1.0±0.0*	0	1.29±0.2	0

Los stents con dosis altas de irinotecan atenuaron la PI reactiva (reestenosis) en conejos. No hubo evidencia de toxicidad celular con las dosis de la droga utilizada.

- 153. (961) LA HORMONA LIBERADORA DE TIROTROFINA (TRH) PARTICIPA EN LA HIPERTENSION INDUCIDA POR OBESIDAD (HIO).** LANDA MARÍA, GARCÍA Silvia, SCHUMAN Mariano, ALVAREZ Azucena, PIROLA Carlos.

Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, Fac de Medicina, UBA.

La leptina induce HIO a través de un aumento de TRH. El ratón agouti, obeso e hiperleptinémico, por una inhibición hipotalámica

de la acción de la leptina tiene un reducido gasto energético y aumento de la ingesta. Comparado a sus controles presentan ($n=11$, $p<0.001$) hipertensión (93 ± 6 vs 82 ± 1 mmHg) y un aumento de TRH (397 ± 46 vs 288 ± 37 pg/mg prot). Se desarrolló un modelo de HIO en 36 machos wistar con una dieta rica en grasa (40% grasa/45 días) vs 6 controles (dieta standard). Luego del tratamiento se observó un aumento ($p<0.04$) de la PA. La leptina correlacionó con la grasa peritoneal ($r:0.79$, $p<0.001$). La participación de la TRH se evidenció al tratar icv 3 grupos de ratas obesas con vehículo (V), antisense contra TRH (AS) y AS invertido (INV). A las 48 hs sólo el AS provocó una disminución de TRH y PA (tabla: * $p<0.03$ vs V, # $p<0.01$ vs C) sin cambios en las hormonas tiroideas.

Grupo	TRH	PA _b	PA ₄₈
C	367±63	135±8	132±6
V	666±106 #	165±6 #	159±11 #
AS	483±88 *	164±5 #	145±10 *
INV	578±89 #	168±7 #	162±8 #

Demostramos que la TRH participa en la HIO probablemente de bido a un aumento de leptina.

- 154. (1037) ESTUDIO DEL TRANSPORTE INVERSO DEL COLESTEROL EN DEPORTISTAS DE ALTO RENDIMIENTO.** BRITES FERNANDO, CUADRADO Virginia, VERONA Julián, DE GEITERE Catherine, CASTRO Graciela, WIKINSKI Regina.

Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Instituto Pasteur de Lille, Francia

El ejercicio físico aeróbico se asocia con mayores niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) cuya función antiaterogénica en el transporte inverso del colesterol (TIC) no fue estudiada en deportistas. Nuestro objetivo fue evaluar el TIC (eflujo de colesterol celular y actividades de lecitina:colesterol aciltransferasa, LCAT, y proteína transportadora de colesterol esterificado, CETP) en deportistas. Se estudiaron 35 futbolistas y 15 controles sedentarios ($18,2\pm 0,2$ vs $18,5\pm 0,3$ años, respectivamente). Se evaluaron índice de masa corporal (IMC), cintura (C), cintura/cadera (C/C), perfil lipoproteico, eflujo de 3H-colesterol de células Fu5AH al medio de cultivo conteniendo el plasma en estudio y actividades plasmáticas de LCAT y CETP. Los parámetros antropométricos no fueron diferentes entre ambos grupos. Los deportistas mostraron niveles significativamente aumentados de colesterol-HDL con respecto a los controles ($48,1\pm 1,1$ vs $42,5\pm 2,1$ mg/dl, $p<0,05$; respectivamente) y mayor eflujo de colesterol ($20,5\pm 0,4$ vs $15,9\pm 1,2$ %, $p<0,005$; respectivamente). No se observaron diferencias en las actividades LCAT ni CETP. C y C/C correlacionaron negativamente con los niveles de colesterol-HDL ($r = -0,43$ y $-0,28$; $p< 0,005$ y $0,05$; respectivamente) y con el eflujo de colesterol ($r = -0,43$ y $-0,36$; $p<0,005$ y $0,05$; respectivamente). Se evidenció que el ejercicio físico periódico produce aumento del primer paso del TIC, el cual está inversamente asociado con los indicadores de adiposidad central.

- 155. (1046) EFECTOS DEL DIAZÓXIDO (DZ) SOBRE LA VIABILIDAD CELULAR Y EL METABOLISMO ANAERÓBICO EN CORAZONES DE RATA SOMETIDOS A ISQUEMIA GLOBAL (I)-REPERFUSIÓN (RP).** MARINA PRENDES MARÍA G., RASTELLI Atilio, FER-NÁNDEZ Alejandra, MARTÍNEZ Mariana, PERAZZO Juan, SAVINO Enrique, VARELA Alicia.

Cát. de Fisiología, Fac. de Farm. y Bioq., UBA. Inst. de la Química y el Metab. del Fármaco, CONICET Cát. de Fisiopatología, Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA.

El DZ 10 uM, abridor de los canales mitocondriales de potasio ATP-sensibles mejora la recuperación funcional en corazones de ratas alimentadas (AL) o ayunadas 24 h (AY), sometidos a I (25 min)-RP (30 min), siendo sus efectos más manifiestos en AL. Se investigó si estos efectos se acompañan de una reducción del tamaño del infarto, y/o de la glucólisis anaeróbica. Para ello se midió el contenido tisular de glucógeno ($n=6$) y de lactato ($n=6$) en corazones perfundidos Langendorff de ratas AL o AY sometidas a I-RP. Se determinó el porcentaje de viabilidad celular (%VC) con

el método de trifeniltetrazolio y morfometría computarizada ($n=5$). El DZ fue agregado al medio de perfusión 10 min antes de la I sostenida. La estadística se hizo con ANOVA. El DZ aumentó el %VC en ambos grupos alimenticios (AL: $56,33\pm 6,9$ vs $21,26\pm 6,6$ % $p<0,01$, AY: $57,97\pm 4,2$ vs $18,21\pm 7,99$ % $p<0,01$). Al finalizar la I el contenido de lactato fue mayor en AL controles que en AY (153 ± 14 vs $112,13\pm 15$ umol/g seco $p<0,01$) y fue disminuido por el DZ sólo en AL ($104,84\pm 12,45$ $p<0,01$). El contenido tisular de glucógeno al finalizar la I no fue modificado por el abridor (AY: 92 ± 19 vs 69 ± 16 ug/100mg seco, AL: 58 ± 10 vs 91 ± 20). Se concluye que la administración de DZ 10uM durante la I y la RP protege contra el daño celular en ambos grupos nutricionales. Este efecto se acompaña de una disminución de la glucólisis anaeróbica sólo en corazones AL, sugiriendo la existencia de otros mecanismos implicados en la acción citoprotectora del DZ.

- 156. (1060) EFECTOS DEL 5-HIDROXIDECANOICO (HD) SOBRE EL PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO (PI) EN CORAZONES SOMETIDOS A ISQUEMIA GLOBAL (I)-REPERFUSIÓN (RP) DE RATAS ALIMENTADAS (AL) O AYUNADAS 24 H (AY).** MARINA PRENDES MARÍA G., RASTELLI Atilio, ASTUDILLA Christian, TESTONI Gustavo, SAVINO Enrique, VARELA Alicia.

Cát. de Fisiología, Fac. de Farm. y Bioq., UBA. Inst. de la Química y el Metab. del Fármaco, CONICET

El ayuno acelera la recuperación funcional en corazones de rata perfundidos Langendorff sometidos a I(25 min)-RP(30 min). El PI y el diazóxido-abridor de los canales mitocondriales sensibles al ATP (K-ATP)-mejoran la recuperación tanto en AL como AY. Sobre esta base se evaluó la acción del HD, bloqueante de los canales K-ATP en corazones AL o AY sometidos a PI (3 min I-5 min RP previos a la I sostenida). El HD (que no modificó los valores basales) fue agregado al medio (cc final 100uM) 5 min antes del PI. En corazones controles el HD fue agregado 13 min antes de la I sostenida. La contractilidad se evaluó mediante el producto presión sistólica x frecuencia (Px F) y la contractura con la presión disatólica final (PDF). La estadística se hizo con ANOVA, ($n=8$). El HD revirtió los efectos favorables del ayuno (Px F AY: 22 ± 5 vs 66 ± 17 % $p<0,01$; AL: 31 ± 12 vs 23 ± 6 % n.s. a los 10 min de RP) y disminuyó la recuperación hacia el final de la RP en ambos grupos alimenticios (Px F AY: 48 ± 12 vs 77 ± 11 % $p<0,05$; AL: 41 ± 11 vs 80 ± 5 % $p<0,01$; PDF AL: 29 ± 10 vs 2 ± 1 % $p<0,01$ a los 25 min de RP). El PI mejoró la recuperación en AY y AL (Px F AY: 112 ± 11 % $p<0,01$; AL: 103 ± 16 % $p<0,01$; PDF AL: 6 ± 3 vs 26 ± 6 % $p<0,05$ a los 10 min), efecto que fue abolido por el HD (Px F AY: 27 ± 10 % $p<0,01$ AL: 20 ± 8 % $p<0,01$; PDF AL: 40 ± 12 % $p<0,01$). Se concluye que el HD disminuye la recuperación postisquémica y produce abolición de los efectos favorables del ayuno y del PI, sugiriendo que el bloqueo de los canales K-ATP es nocivo para el corazón sometido a I-RP.

- 157. (1068) EL CLUSTER GENÉTICO AI/CIII/AIV Y LA HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA.** VERONA JULIÁN, BRITES Fernando, RECALDE Delia, HOUBEINE Louis, WIKINSKI Regina, ZAKIN Mario, CASTRO Graciela.

Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Institut Pasteur de Paris, Francia. Institut National de la Recherche, Jouy en Josas, Francia

Resultados previos evidenciaron que conejos transgénicos (tg) para el cluster AI/CIII/AIV humano, agrupamiento genético involucrado en la hiperlipemia familiar combinada (HFC), presentaban aumento de triglicéridos (TG), colesterol total (CT), CHDL, eflujo de C celular y disminución de actividad de lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT) y de proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP), mientras que el área de lesión aterosclerótica aórtica no se modificaba. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto de una dieta rica en C en conejos tg para dicho cluster. Se estudiaron 15 conejos tg y 16 controles. Se evaluaron TG, CT, CHDL, eflujo de C, actividad LCAT y CETP, y área de lesión aterosclerótica aórtica. La administración de la dieta rica en C durante 90 días a los conejos tg y controles produjo los siguientes resultados: TG 921 ± 160 vs 200 ± 26 mg/dl $p<0,05$; CT 1931 ± 13 vs 1225 ± 73 $p<0,001$; CHDL 36 ± 2 vs 8 ± 1 $p<0,001$; eflujo $17,8\pm 0,6$ vs $12,2\pm 0,4$

% $p < 0,001$; LCAT $2,3 \pm 0,7$ vs $3,2 \pm 0,5$ $p > 0,05$; CETP $80,5 \pm 0,4$ vs $81,7 \pm 0,4$ $p > 0,05$; y lesión aórtica 31 ± 5 vs 29 ± 7 μm^2 ($p > 0,05$); respectivamente. En los conejos tg se hallaron modificaciones pro y antiaterogénicas. Este hecho sería responsable de que la hiperlipemia generada por la dieta rica en C en conejos tg produjera daño arterial similar al de los controles. Estos resultados sugieren que el cluster AI/CIII/AIV podría influir en la HFC, aunque no sería determinante en sus consecuencias aterogénicas.

GASTROENTEROLOGÍA III

- 158. (604) LA EXPRESIÓN DEL CANAL DE AGUA AQP8 (AQP8) ESTÁ DISMINUIDA EN COLESTASIS EXTRAHEPÁTICA.** CARRERAS FLAVIA, GRADILONE Sergio, MAZZONE Amelia, GARCÍA Fabiana, OCHOA J. Elena, TIETZ Pamela, LARUSSO Nicholas, CALAMITA Giuseppe, MARINELLI Raúl.

Instituto de Fisiología Experimental. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Universidad de Bari. Italia. Mayo Medical School, Clinic, and Foundation. USA

Recientemente demostramos que AQP8 se expresa en hepatocitos, localizándose principalmente en vesículas intracelulares, y que su translocación hacia la membrana plasmática facilita el movimiento osmótico de agua durante la formación de la bilis canalicular. Así, una alteración en la expresión de AQP8 podría asociarse a una disfunción secretora biliar en colestasis obstructiva. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la expresión y localización subcelular de AQP8 en hígado de ratas con colestasis extrahepática causada por ligadura del conducto biliar (BDL). Estudios de fraccionamiento subcelular seguido de inmunoblotting indicaron que a partir de los 3 días de BDL, el contenido intracelular de AQP8 se redujo significativamente (75%, $p < 0,001$) sin afectar su expresión en la membrana plasmática. Luego de 7 días de BDL, AQP8 disminuyó tanto en la fracción intracelular (67%, $p < 0,05$) como en membrana plasmática (56%, $p < 0,05$). Estos resultados fueron confirmados por inmunohistoquímica de secciones de hígado. El ARNm de AQP8, medido por Northern blot, no disminuyó sino que por el contrario aumentó significativamente un 200% a los 3 y 7 días de BDL. La colestasis extrahepática obstructiva produjo una disminución de la expresión proteica de AQP8 en hepatocitos, posiblemente mediante mecanismos post-transcripcionales. La expresión defectuosa de AQP8 podría estar involucrada en los mecanismos moleculares determinantes de la disfunción secretora biliar en colestasis.

- 159. (681) ALTERACIONES DE LA RESPUESTA A NORADRENALINA PROVOCADAS POR EL BLOQUEO DE LAS VÍAS DEL ÓXIDO NITRICO Y DEL MONÓXIDO DE CARBONO EN RATAS CON HIPERTENSION PORTAL PREHEPÁTICA.** ROMAY SALVADOR, ERARIO María de los Angeles, GONZALES Soledad, CASTRO José Luis, EIZAYAGA Francisco, TOMARO María Luján, LEMBERG Abraham.

Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires, Cátedras de Química Biológica Vegetal, Farmacología y Fisiopatología.

Las colaterales portosistémicas en la hipertensión portal (HP), se comportan como un shunt arteriovenoso, alterando la respuesta a catecolaminas. A fin de estudiar el papel de las vías vasodilatadoras del Óxido Nítrico y del Monóxido de Carbono en la regulación de esta respuesta, utilizamos los bloqueantes NAME y Zn Protoporfirina IX (ZnPPIX). Se utilizaron ratas Wistar de 200 a 250 g. G1: operación ficticia (Sh). G2: Sh + ZnPPIX (1,5 mg/kg). G3: Estenosis reglada de la Vena Porta (ERVP). G4: ERVP + ZnPPIX ($n = 5$ /grupo). A los 4 grupos se les realizó una curva dosis respuesta de Noradrenalina (NA) a 0,33; 1 y 3,33 mg/kg, antes y después de la inyección de 6 mg/kg de NAME. Las drogas fueron inyectadas por vía esplénica y se colocaron catéteres en bazo y carótida para registros de presión portal y arterial. En las ratas Sh el agregado NAME aumentó la respuesta presora a la dosis mas baja de NA ($11,3 \pm 2$ vs. $16 \pm 1,1$ mmHg*). El tratamiento previo con ZnPPIX produjo una disminución significativa de la respuesta a NA respecto del control ($33,7 \pm 5,9$ vs.

$22,3 \pm 2,1$ mmHg*). El tratamiento con NAME+ZnPPIX acentuó la diferencia en la respuesta presora a NA ($12,3 \pm 3$ vs. $22,3 \pm 2,1$ mmHg*). En las ratas con ERVP la respuesta a NA no sufrió cambios con el pretratamiento con ZnPPIX, sin embargo la combinación de esta con NAME aumentó el efecto presor de NA ($12,3 \pm 2$ vs. $29 \pm 5,1$ mmHg*) ($* = p < 0,05$). La supresión de las 2 vías vasodilatadoras produjo cambios opuestos en Sh y ERVP.

- 160. (758) DETECCIÓN DE PICOBIRNAVIRUS EN NIÑOS CON DIARREA DE LA PROVINCIA DE LA RIOJA.** REYNOSO CECILIA, GIMENEZ Adrian, HUNICKEN Gustavo, DIAZ ARIZA María, BRIDERAS Irene, TORRES NEME Marta, MARTINEZ Laura, GIORDANO Miguel, NATES Silvia, CORDOBA Patricia.

Fundacion Barcelo, Hospital Jurisdiccional Dr. Enrique Vera Barros, Instituto de Virología. UNC

Picobirnavirus recientemente fue relacionado con la producción de diarreas. En Argentina se detectó en inmunocomprometidos con diarreas. En este trabajo se estudió la presencia de picobirnavirus en niños con gastroenteritis de la Provincia de La Rioja. Se analizó a 61 niños ambulatorios con gastroenteritis provenientes de los servicios de Pediatría y Neonatología del Hospital Jurisdiccional "Enrique Vera Barros" desde Noviembre 2001 hasta Julio del 2002. Ninguno de los niños estudiados fue HIV positivos. Se obtuvo materia fecal durante los síntomas clínicos. Las muestras se procesaron por la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida con la extracción de ARN de guanidina/tiocianato. El patrón de migración característico para picobirnavirus es de dos bandas alrededor de 2,5 Kbp y 1,7Kbp. Dos muestras resultaron positivas para picobirnavirus (3,3%). Uno con 12 meses y otro de 8 años de edad. Ambos casos se produjeron durante el verano. Los niños residen en barrios con agua potable y cloacas. En ninguno de los casos se encontró otro patógeno enterico asociado. Este trabajo muestra que Picobirnavirus está presente en nuestra comunidad produciendo diarreas en niños y es el primer registro de Picobirnavirus como productor de diarreas en niños de Argentina. Es importante continuar el estudio para caracterizar clínicamente esta infección y conocer las tendencias estacionales afín de contribuir al conocimiento de las etiologías de las diarreas en nuestro país.

- 161. (886) ¿SON REVERSIBLES LAS ALTERACIONES DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA EN LA HIPERTENSION PORTAL PREHEPÁTICA EXPERIMENTAL?** PRESTIFILIPPO JUAN PABLO, EIZAYAGA Francisco, SCORTICATI Camila, ROMAY Salvador, FERNÁNDEZ Alejandra, COSTILLA PROTO Ximena, LEMBERG Abraham, PERAZZO Juan carlos.

Cátedra de Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires

La hipertensión portal es una de las complicaciones más comunes en la cirrosis hepática humana. Hemos descripto alteraciones en la barrera hematoencefálica (BHE) de ratas con hipertensión portal prehepática (ERVP). Con el objetivo de establecer la evolución de este modelo se compararon los siguientes grupos de ratas ($n = 6-8$): Control (C): Operación simulada, G1:ERVP de 14 días y G2: ERVP de 40 días. Se analizó la integridad de la BHE por el método de Tripán Blue (TB, Marmorou) en el hipocampo cerebral, el contenido de agua en corteza cerebral (CA, método gravimétrico) y concentración de proteínas (CP, Bradford) en LCR. Se tomaron muestras de sangre para las siguientes determinaciones: ASAT, ALAT (Cinético-enzimático), amonemia (NH4, Cinético-Enzimático) y CP plasmáticas. Se midió Presión Portal (PP, Polígrafo de Grass). TB: C: intravascular, G1: TB intravascular y perivascular difuso. G3: TB intravascular con trazas perivasculares. Tanto CA, ASAT como ALAT no difirieron en forma significativa. NH4 (mM/l): C: $12,99 \pm 3,9$. G1: $79,0 \pm 15,0^*$. G2: $44,76 \pm 4,51^* \#$; PP: (mmHg): C: $7,6 \pm 1,9$. G1: $14 \pm 1,8^*$. G2: $2,52^* \#$. Proteínas LCR: C: $19,52 \pm 0,8$; G1: $40,6 \pm 6,8^*$; G2: $19,840 \pm 1,1$. ($* p < 0,05$ vs. C. $\# p < 0,05$ G1 vs G2). Estos resultados sugieren que los cambios observados en la BHE de ratas hipertensas portales prehepáticas de 14 días son parcialmente reversibles al día 40 (G2). La amonemia elevada y los bajos valores de presión portal en G2 indican la persistencia del shunt portosistémico.

- 162. (908) DIAGNOSTICO DE PATÓGENOS ENTERICOS EN NIÑOS HOSPITALIZADOS EN LA PROVINCIA DE LA RIOJA.** DIAZ ARIZA MARÍA DEL CARMEN, TORO Andrea, GIMENEZ Adrian, HUNICKEN Gustavo, BRIDERA Irene, TORRES N Marta, BARRIOS Jose, FLORES Sonia, DIAZ MAYORGA Cristina, CORDOBA Patrica.

Fundacion Barcelo , Sede La Rioja. Hospital Jurisdiccional Dr. E. Vera Barros

La Rioja tiene alrededor de 150 internaciones anuales por diarreas en niños. La etiología no se conoce. Nuestro objetivo fue determinar los agentes etiológicos involucrados en la internación de niños por gastroenteritis en la Provincia de La Rioja. Se estudió 40 niños menores de 5 años hospitalizados en el Hosp. "Dr. E Vera Barros" de Nov. del 2000 a Junio del 2002. Se obtuvo materia fecal durante las primeras 48 hs. de internación y datos epidemiológicos. Se procesó para bacterias, virus y parásitos entéricos. En el 42 % se detectó la etiología. El 70% se deshidrató y el 30% restante tuvo desnutrición. El 57% residía en la capital. Se determinó Rotavirus (31,6%), Shigella y Salmonella (15,8%/u), E. coli (10,5%), Giardia lamblia y Adenovirus (5,2 %c/u) y viral mixta (5,2%). El 50% de la etiología viral se trató con antibióticos y el 80 % presentó células en materia fecal. En el 38,5% de los niños sin etiología conocida tenían tratamiento previo de antibióticos y la muestra fue obtenida con muchos días de evolución. La etiología de niños hospitalizados por gastroenteritis de la provincia de La Rioja es por bacterias transmitidas por alimentos y rotavirus. Para mejorar el diagnostico etiológico se debe optimizar la toma de muestra, no descartar la etiología viral por leucocitos en materia fecal y estudiar las etiologías mixta. Este estudio es el primer reporte de la etiología gastroenteritis en niños de La Rioja y debemos continuar trabajando a fin de prevenir esta patología en nuestro medio.

- 163. (1149) CARACTERIZACIÓN DE HEPATOCITOS HUMANOS CULTIVADOS IN VITRO.** BARBICH MARIANA, LORENTI Alicia, HILDALGO Alejandra, DE SANTIBAÑES Martín, IELPI Marcelo, MORALES Vanina, ARGIBAY Pablo.

Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Hospital Italiano de Buenos Aires

El trasplante de hepatocitos como alternativa al trasplante ortotópico de hígado requiere una población de células metabólicamente activas que cumplan las funciones del hígado. El objeto de este trabajo es describir el comportamiento in vitro de hepatocitos humanos obtenidos a partir de piezas quirúrgicas postrasplante. Los segmentos fueron procesados con canulaciones múltiples para lograr la perfusión del órgano. Se obtuvieron 28x10⁶ células/gr de tejido, y viabilidad de 80 %. Las células fueron cultivadas 30 días, en medio E-Williams suplementado con factores de crecimiento y SFB. Hubo síntesis de albúmina durante 15 días, con un máximo al día 6 (27,85±1.77 µg/ml) y de urea durante 7 días (máximo 17.12±2.11 mg/dl, día 6). La histología mostró crecimiento en monocapa y formación de acúmulos con pigmentos biliares a los 20 días. La inmunohistoquímica para albúmina y "hepatocyte" fue positiva, como también para CD34 (vasos de neoformación), CD68 (Kupffer), y alfa-actina (Ito). Estos resultados muestran que las células obtenidas a partir de segmentos de reducción hepática, disgregadas y cultivadas, mantienen su viabilidad y funcionalidad in vitro con una disposición de características tisulares donde todas las poblaciones hepáticas están representadas. De esta manera podemos evaluar el metabolismo de los hepatocitos in vitro y disponer de una fuente de células aptas para ser trasplantadas

HEMATOLOGÍA II

- 164. (815) INHIBIDORES DE LA PARP Y DE LA DNA-PK BLOQUEAN LA TELOMERASA E INDUCEN APOPTOSIS EN LÍNEAS CELULARES LEUCÉMICAS EXPUESTAS A RADIACIONES IONIZANTES.** GISONE PABLO, DUBNER Diana, PEREZ María del Rosario, MICHELIN Severino, CAROSELLA Edgardo Delfino.

Autoridad Regulatoria Nuclear SERVICE DE RECHERCHES EN HEMATO-IMMUNOLOGIE, HOPITAL SAINT LOUIS, PARIS, CEA, FRANCE

La actividad de telomerasa (AT) es una vía de mantenimiento de los telómeros y puede además estabilizar rupturas en el ADN. Se evaluó el efecto de wortmanina 1 µM (W) y 3-aminobenzamida 20 mM (3-AB), en términos de AT e inducción de apoptosis, en líneas Molt4 (p53+/+) y KG1a (p53-/-) expuestas a 3 Gy (fuente gamma). Se determinó apoptosis por citometría de flujo, AT (ensayo TRAP) y expresión de ARNm hTERT, hTR y TP1 (RT-PCR). El incremento radioinducido de AT, con valores máximos 24 hs p.i. (Molt4: 4,2 veces; KG1a: 3,1 veces), no fue observado en presencia de W o 3-AB. La sobre-expresión de hTERT fue inhibida por W en Molt4. La apoptosis, evidente a partir de 8 hs p.i. en Molt4 (control: 9,4 +/- 1,5 %; 3 Gy: 39,1 +/- 3,4 %) y luego de 72 hs p.i. en KG1a (control: 8.69 +/- 0.9 % vs 3 Gy: 27,5 +/- 3,1 %), aumentó en presencia de 3AB en ambas líneas (Molt4/8 hs : 57,5 +/-6,5 %; KG1a/72 hs : 39,3 +/- 2,3 %) y en presencia de W sólo en Molt4 (8 hs p.i.: 49,4 +/- 3,1 %). El efecto activador de las radiaciones ionizantes sobre la AT fue revertido por ambos fármacos, inhibidores de dos sistemas relevantes de señalización de daño genómico. Esto indujo un aumento de apoptosis en ambas líneas. Las diferencias observadas en la respuesta a W, podrían ser atribuidas a la expresión del gen p53. Estos resultados sugieren un rol de la AT en la reparación de daño genómico con una acción anti-apoptótica estrechamente vinculada al status p53.

- 165. (934) LA PROSTACICLINA REGULA LA APOPTOSIS BASAL INDUCIDA POR ÓXIDO NÍTRICO DE LOS MEGACARIOCITOS.** NEGROTTO SOLEDAD, POZNER Roberto G, GOMEZ Ricardo M, D'ATRI Lina P, LAZZARI María A, BELLUSCHI Guillermo F, SCHATTNER Mirta A.

Depto. de Hemostasia y Trombosis, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

En este trabajo analizamos el efecto de la prostaciclina (PGI₂) sola o combinada con óxido nítrico (ON) sobre la apoptosis de megacariocitos (MCS). El tratamiento de MCS (células CD34(+)) de cordón umbilical humano tratados con trombopoyetina durante 10 días, n=4-5) por 48 hs con DETA-ON (100 µM) disminuyó el número de MCS (Nx10⁴(4)) respecto al control (30±2 vs 66±4, p<0.05 respectivamente) y aumentó el porcentaje de apoptosis (49±9 vs 17±2, p<0.05) determinada por tinción con bromuro de etidio y naranja de acridina. La presencia de PGI₂ (3 µM) no produjo los efectos observados con ON (65±9 MCS y 16±3 % de apoptosis) pero revirtió el efecto inhibitorio en el número de MCS y disminuyó la apoptosis inducida por ON (46±3 y 28±3). Dado que tanto la PGI₂ como el ON se producen en forma constitutiva, estudiamos la acción de ambas drogas adicionadas diariamente solas o combinadas durante 7 días. El tratamiento con bajas concentraciones de DETA-ON (10 µM) disminuyó el número de MCS (39±10 vs 56±7) y aumentó la apoptosis (23±2 vs 15±0.5) respecto de los cultivos no tratados. La PGI₂ disminuyó significativamente la apoptosis basal (9±1.5) de los MCS y revirtió completamente la inducida por ON (16±1) junto con un aumento en el número de MCS (46±9). Los resultados muestran que la PGI₂ es capaz de ejercer un efecto citoprotector en los MCS suprimiendo tanto la apoptosis basal como la inducida por ON.

- 166. (967) PRESENCIA DE RECEPTOR DE TGFB EN PLAQUETAS.** LEV PAOLA, LAGUNA María, MOLINAS Felisa.

Inst. de Invest. Medicas A. Lanari, UBA

Las plaquetas almacenan proteínas que son liberadas durante su activación. El TGFβ está almacenado en las plaquetas y se libera durante la activación plaquetaria, pero se desconoce si ejerce un efecto sobre las mismas y si éstas poseen receptor. Para aclarar esto se estudiaron plaquetas (plaq) normales y se realizaron los siguientes ensayos: 1) presencia de receptores de TGFβ en plaquetas por citometría de flujo utilizando el equipo comercial Fluorokine. Para esto las plaq se lavaron y ajustaron a 8000 plaq/µl. Se determinó la intensidad de fluorescencia media (Gmean) y

se calculó la relación (rel) entre la Gmean del TGFb y la del isotipo. 2) El efecto del TGFb sobre la agregación plaquetaria. El PRP se incubó a 37° con TGFb durante 5 ó 60 min. Se utilizó ADP como agonista, a concentración baja (0,4-1mM) para inducir agregación parcial y alta (2mM) para total. Observamos lo siguiente: 1) Por citometría de flujo, una marcación significativa, rel 1.3±0.18 (media±SD), p=0.0005; 2) un incremento de la agregación plaquetaria con concentraciones bajas de ADP, 12-20% cuando las plaq se incubaron con TGFb durante 5 min y 30-50% cuando se incubaron 60 min. Con altas concentraciones de ADP se obtuvo una disminución de 10-20% a los 5 min de incubación y un incremento del 10-12% a los 60 min. Estos resultados sugieren la presencia de receptores, en bajo número, en las plaquetas y que su efecto sobre la agregación plaquetaria depende de la concentración de ADP y del tiempo de incubación.

- 167. (1013) EFECTO DE LA RESISTENCIA A LA PROTEINA C ACTIVADA (RPCA) EN FIBRINOLISIS BASAL Y POST ISQUEMIA.** SALVIU MARÍA JULIETA, BLANCO Alicia, NADAL Victoria, GENNARI Laura, BERMEJO Emilse, LAZZARI María.

Academia Nacional de Medicina IIHEMA, Dpto de Hemostasia y Trombosis. Buenos Aires

La trombina, generada por la deficiente inactivación de Va y VIII, podría inhibir la fibrinólisis por activación del TAFI y contribuir al desarrollo de trombosis. Evaluamos si la RPCa (FV Leiden) se asocia a la disminución de la fibrinólisis basal o post-isquemia. Además de la RPCa (APCResistance V, Chromogenix), se evaluó la fibrinólisis basal (lisis de euglobulinas (TLE), activador tisular del plasminógeno biológico (tPAb) e inmunológico (tPAi), inhibidor del tPA biológico (PAIb) e inmunológico (PAIi)) en 328 individuos y la respuesta a la isquemia (10min.) expresada como TLEpost/pre (anormal>0,749) en 314. Los individuos se dividieron en resistentes RPCa+ (<1,94) o no (RPCa-). La prevalencia de TLE anormal (>240 min.) fue mayor (pChi(2):0,017) en RPCa+ (14/19) comparado con RPCa- (142/309). Esto condice con el mayor (pMW:0,039) TLE en RPCa+ (media±ESM: 269,7±20,8) comparado con RPCa- (234,5±4,8). El tPAb fue menor (pMW:0,004) en RPCa+ (0,390±0,069) que en RPCa- (0,552±0,022). La correlación fue baja entre RPCa y TLE (r:-0,115; p:0,040) o RPCa y tPAb (r:-0,137; p:0,017), pero significativa. En cambio, no hubo diferencias en la prevalencia de respuesta anormal (pChi(2):0,138; RPCa+:10/19; RPCa-:110/295), ni en el TLEpost/pre (pMW:0,161; RPCa+: 0,704±0,052; RPCa-:0,616±0,016). La RPCa disminuiría la fibrinólisis basal, no pudiéndose demostrar un claro efecto post-isquemia. Ello hablaría a favor de una relación entre la RPCa+, la formación de trombina y la fibrinólisis.

- 168. (1026) FACTOR VIII (FVIII) Y RESISTENCIA A LA PROTEÍNA C ACTIVADA (RPCA) EN PACIENTES TRATADOS CON DDAVP.** GENNARI LAURA CECILIA, BLANCO Alicia, GROSSO Silvia, FARIAS Cristina, LAZZARI María.

Academia Nacional de Medicina IIHema, Dpto. de Hemostasia y Trombosis, Buenos Aires

La RpCa, no debida a FV Leiden, es un factor de riesgo trombótico independiente. Estudios "in vitro" mostraron que concentraciones de FVIII >150% se asociarían a una respuesta anómala a la pCa. Nos propusimos evaluar: A-la relación entre los niveles de FVIII "in vivo" y la RpCa y B-cuál es la concentración de FVIII por encima de la cual existe riesgo de una respuesta anómala a la pCa. Analizamos muestras de pacientes antes y después (1, 2 y 24 h.) de la infusión de DDAVP (0,3µg/kg). Determinamos la concentración de FVIII (1-etapa, plasma deficiente en FVIII, Grifols) y la RpCa por la técnica original (APC Resistance, Chromogenix); obteniéndose valores de FVIII de 121,4±7,9% (media±ESM) (rango:45-250%) y de RpCa de 3,16±0,15 (rango:1,91-5,24). En 6/42 muestras la RpCa fue anormal (<2,40) (mediana:2,27; rango:1,91-2,40), con valores de FVIII entre 120-250% (mediana:195%). Los valores de RpCa correlacionaron con los de FVIII (rSpearman=-0,774; p<0,001), observándose diferencias significativas (pMW=0,003) al comparar la concentración

plasmática de FVIII entre RpCa anormal (185,0±18,4) y RpCa normal (110,8±7,5). Del análisis de regresión lineal (±IC95), surge que valores de FVIII >166,33% podrían presentar una respuesta anómala a la pCa. Los resultados presentados sugieren que los niveles plasmáticos de FVIII influyen la respuesta a la pCa. La concentración de FVIII "in vivo" asociada a una respuesta anómala a la pCa sería semejante a la reportada en los estudios "in vitro".

- 169. (1104) ALTERACIONES DE EXPRESIÓN Y DEL CLIVAJE PROTEOLÍTICO DEL RECEPTOR DE IL-6 EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES CON TROMBOCITEMIA ESENCIAL.** GOETTE NORA PAULA, MARTA Rosana, LEV Paola, MOLINAS Felisa.

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari. UBA

En un trabajo anterior describimos el aumento plasmático del receptor soluble de IL-6 (IL-6sR) y de la liberación del mismo en cultivo de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) en pacientes con trombocitemia esencial sin tratamiento. Para evaluar la fuente celular realizamos estudios del receptor de membrana (IL-6R) en células de sangre periférica de siete pacientes y diez normales por citometría de flujo. Se usó un anticuerpo monoclonal contra el mismo (CD126-PE) y marcadores para las poblaciones de monocitos, linfocitos T, B y granulocitos. Para investigar si el mecanismo responsable del aumento de la liberación en cultivo de IL-6sR es por splicing alternativo o clivaje proteolítico se cultivaron CMSP de siete pacientes y seis normales en presencia y ausencia del inhibidor de metaloproteasa (TAPI) que cliva el IL-6R. La citometría mostró aumento de la relación Gmean marcado/Gmean isotipo en los monocitos de los pacientes respecto del grupo control (p=0,028). En el resto de las poblaciones no se encontraron diferencias. Aunque el porcentaje de inhibición de la liberación en presencia de TAPI en los pacientes, 58% (76-11) (mediana y rango), fue mayor que en el grupo control, 30% (69-10), la diferencia no fue estadísticamente significativa. En conclusión, una de las células responsables del aumento del IL-6sR podrían ser los monocitos. También se halló una tendencia al aumento de la actividad de la metaloproteasa en pacientes con trombocitemia esencial.

- 170. (1158) DESARROLLO HEMOPOYÉTICO Y ESTROMAL EN HÍGADO FETAL DE EMBRIONES DE RATAS EN DIFERENTES ESTADIOS.** BIANCHI DE DI RISIO CATALINA, LORENTI Alicia, HIDALGO Alejandra, BARBICH Mariana, ARGIBAY Pablo.

Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Hospital Italiano de Buenos Aires

El hígado embrionario aparece a los 12,5 dpc (días post-coitum) en la rata, y luego se expande ocupando gran parte de la cavidad abdominal. En los fetos, el hígado es el sitio hemopoyético fundamental, eritroide primero y luego granulocítico y megacariocítico. La hemopoyesis se regula por factores de crecimiento y el microambiente, el que está formado por una matriz de células estromales. En este trabajo se estudió el desarrollo del sistema hemopoyético, en hígados de embriones de rata desde los 12,5 dpc hasta 1 día pos nacimiento. Las células fueron disgregadas mecánicamente y cultivadas en medio semisólido con factores estimulantes de colonias (Ogawa), y líquido para desarrollo del estroma (Dexter). Se observó que la hemopoyesis a los 12,5 dpc es exclusivamente eritroide y el estroma está constituido por fibroblastos, macrófagos y adipocitos. A los 13,5 dpc y hasta los 17,5, aumentan las colonias eritroides, aparecen las primeras granulocíticas y, en el estroma, las células endoteliales, cobertoras y nurses. A los 17,5 dpc la hemopoyesis disminuye hasta desaparecer con el nacimiento, junto con el estroma. Aquí, la hemopoyesis se desplaza a la médula ósea (MO), con actividad semejante a la adulta. De lo observado concluimos que en el feto, los cambios en la hemopoyesis y el microambiente son contemporáneos, y su interacción regula el proceso hemopoyético en cada estadio de la ontogénesis, condicionando a las células "stem" a diferenciar en un sentido y no en otro.

INMUNOLOGÍA IV

171. (458) **MARCADORES FENOTÍPICOS Y PERFIL DE CITOQUINAS ASOCIADOS A LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE COLÁGENO TIPO II Y QUITOSANO.** PORPORATTO CARINA, CABANILLAS Ana, BIANCO Ismael, CORREA Silvia.

Inmunología, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC CEPROCOR. Córdoba

Nuestro objetivo es caracterizar en mucosa o a nivel sistémico eventos tempranos asociados a la administración oral de colágeno y el polisacárido Quitosano para inducir tolerancia en artritis. Ratas Wistar recibieron una única dosis de colágeno tipo II (C), quitosano (Q), colágeno:quitosano (C:Q) o diluyente (D) o bien Q durante 5 días y luego 1 única dosis de C:Q (Q:C:Q). Al cabo de 16 h se extrajeron placas de Peyer (PP), nódulos mesentéricos (NM) y bazo (B) y se prepararon suspensiones celulares para estudios fenotípicos o se obtuvo RNA total de PP. Por citometría de flujo se analizó la expresión intracelular y en membrana del marcador CD3 (en PP y B) para evaluar activación celular, así como el % de linfocitos CD4+, CD4+CD25- y CD4+CD25+ (en PP, NM y B). Por RT-PCR se determinó la expresión del RNAm para las citoquinas IL-10, IL-4 y TGF- β . Observamos una disminución en el % de células CD3+ en PP y B de los grupos C, Q y C:Q y un aumento en la expresión intracelular en B en el grupo C:Q ($p < 0.05$). El % de células CD4+CD25+ aumentó en B en el grupo C y en PP luego de la administración de Q y C:Q ($p < 0.05$). La expresión del RNAm de IL-10, IL-4 y TGF- β fue mayor en todos los grupos tratados respecto del D, con un efecto estimulador de Q en la expresión de RNAm de TGF- β . Los distintos eventos observados en mucosa y a nivel sistémico sugieren que la coadministración de C y Q estimulan un microambiente inmuno-regulatorio que favorecería la inducción de tolerancia a colágeno.

172. (459) **EL POLISACÁRIDO QUITOSANO ACTIVA VÍAS ALTERNATIVAS DEL METABOLISMO DE L-ARGININA EN MACRÓFAGOS DE RATA.** PORPORATTO CARINA, BIANCO Ismael, RIERA Clelia, CORREA Silvia.

Inmunología, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC CEPROCOR

El polisacárido quitosano (Q) se emplea en medicina veterinaria como acelerador de la cicatrización y reparación de heridas. En estos procesos participan distintos elementos como macrófagos (M), fibroblastos, poliaminas y el aminoácido L-arginina. Por ello estudiamos los efectos de Q sobre las dos vías metabólicas de arginina en M peritoneales de rata (normales o inflamatorios) incubados con Q de alto y bajo PM, dependiendo del grado de deacetilación del mismo, a diferentes concentraciones durante 24, 48 y 72 h. Determinamos la liberación de ON, metabolito de la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) en el sobrenadante y la actividad de arginasa en el lisado celular por métodos colorimétricos. Evaluamos también la capacidad de sobrenadantes de cultivos de M tratados con Q de estimular la proliferación de la línea celular C6. Observamos que en M no estimulados, Q induce la liberación de ON (alto y bajo PM) ($p < 0.01$) y la actividad de arginasa (bajo PM) ($p < 0.01$) con una acción estimulante sobre la proliferación celular. En M inflamatorios, la actividad de la iNOS disminuye a pesar del tratamiento pero la vía de la arginasa de encuentra incrementada ($p < 0.05$) y estos efectos se revirtieron con inhibidores específicos. Los resultados observados sugieren que la acción del Q en la cicatrización se asociaría a un desvío hacia la vía metabólica de la arginasa que promueve la proliferación celular, el depósito de colágeno y la reparación de tejidos.

173. (592) **AUTOINMUNIDAD COMO AGENTE ETIOLÓGICO EN LA PROSTATITIS CRÓNICA NO BACTERIANA.** MOTRICH RUBEN D, MINUZZI Gustavo, OLMEDO José, MACCIONI Mariana, MOLINA Rosa, TISSERA Andrea, RIERA Clelia, RIVERO Virginia.

Inmunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba FUCDIM (Fundación Urológica de

Córdoba), LAR (Laboratorio de Andrología y Reproducción)

La prostatitis crónica no bacteriana (NBP) es una patología muy común y de difícil tratamiento, constituyendo el 90% del total de las prostatitis. Su mayor problema radica en la identificación del agente etiológico. Una hipótesis postula un fenómeno autoinmune como uno de los responsables. Para evaluar esta posibilidad, realizamos estudios de proliferación de células mononucleares de sangre periférica en 23 pacientes con diagnóstico clínico de NBP y 7 hombres jóvenes sanos como grupo control. Evaluamos la respuesta linfoproliferativa frente a diferentes antígenos prostáticos: plasma seminal humano normal (PL), extracto prostático humano normal (EP), Antígeno prostático específico (PSA) y Fosfatasa ácida prostática (PAP). Es interesante destacar pudimos detectar respuesta linfoproliferativa en el 21,7% (5/23) de los pacientes frente a uno o más de los antígenos ensayados. Simultáneamente determinamos los niveles de IgG e IgM séricas específicas para PSA y PAP. Si bien observamos una tendencia a tener valores elevados de estos anticuerpos en la población de pacientes con respecto a la población normal, no existe diferencia significativa entre las 2 poblaciones. Estos resultados nos permiten evidenciar la presencia de un componente autoinmune como agente etiológico en una fracción de pacientes con NBP; con un mecanismo de respuesta de tipo celular principalmente, el que podría ser desencadenado por eventos de inflamación genitourinaria y/o trauma repetitivo.

174. (683) **COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS ANESTÉSICAS EN COLECISTECTOMÍA POR VIDEOLAPAROSCOPIA (CVL). REPERCUSIONES SOBRE PARÁMETROS DE LA RESPUESTA NEUROENDÓCRINA.** GRAZIOLA ENZO, ELENA Gustavo, MÉNDEZ Fernanda, COLUCCI Dario, PUIG Nora.

Hospital Italiano Garibaldi. Rosario Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, U.N. Rosario

El estrés anestésico-quirúrgico produce modificaciones neuroendócrinas, metabólicas e inmunológicas. Se evaluó el efecto de las drogas y técnicas anestésicas aplicando anestesia total endovenosa (E) o inhalatoria (Inh) en CVL, de limitada agresión tisular. Pacientes programados para CVL a las 7:30 AM, 20-65 años, ASA I: Grupo Inh: propofol, fentanil e isoflurano ($n=13$), Grupo E: propofol, remifentanil y vecuronio ($n=14$). Se registró PAS, PAD, FC, oximetría y capnografía. En muestras de sangre: basal, intraoperatoria (I.O.), 1er y 7º día postoperatorio, se realizó hemograma, recuento leucocitario y linfocitario (CD3, CD4, CD8 y CD20), nivel sérico de cortisol, prolactina e interleucina 6. Datos corregidos por hemodilución se analizaron por test no paramétricos. Las diferentes técnicas anestésicas no modificaron los parámetros clínicos. Se detectaron movimientos entre los distintos momentos anestésico-quirúrgicos. Las diferencias entre grupos se verificaron en el IO. El grupo E presentó menor nivel de cortisol (media \pm d.s.: 177 \pm 69 ng/ml vs. Inh: 307 \pm 96, $p < 0,04$), y mayor porcentaje de neutrófilos (74 \pm 12 vs. Inh: 61 \pm 20, $p < 0,05$) y LTCD4+ (53 \pm 11 vs. Inh: 41 \pm 17, $p < 0,025$). En el grupo Inh el nivel de cortisol se asoció con el número de neutrófilos ($r[[S]]$ 0,692 $p=0,01$). Si bien el trauma quirúrgico es el principal factor involucrado en los cambios neuroendócrinos relacionados con la cirugía, los procedimientos anestésicos pueden modular la respuesta a la cirugía en el intraoperatorio.

175. (713) **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS DE INTESTINO DELGADO DE RATÓN.** CHIRDO FERNANDO, MILLINGTON Owain, BEACOCK-SHARP Helen, MCI. MOWAT Allan.

Cátedra de Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP, Department of Immunology, University of Glasgow, Western Infirmary. Glasgow. Escocia

Las células dendríticas (DC) juegan un rol central en la respuesta inmune. Sus propiedades han sido estudiadas en varios tejidos, en cambio es escaso el conocimiento de las DC de lamina propia de intestino delgado (LPDC). Estas células determinan, probablemente, la respuesta frente a antígenos dietarios y microorganismos presentes en el lumen. Las LPDC fueron aisladas por digestión

enzimática y purificadas por separación magnética. El fenotipo y la actividad endocítica in vivo e in vitro de Dextran-fluoresceína (Dx-FITC) fueron evaluados por citometría de flujo. La presentación antigénica se evaluó in vitro, in vivo y en experimentos de transferencia empleando linfocitos T con receptor transgénico específico para Ovalbumina (OVA) (LTt). La técnica de obtención optimizada permitió recuperar 2 - 6x10⁵ células CD11c+/intestino con 80-92% de pureza. Se observó que 60% de las LP DC son CD11b+ y cerca del 20% expresan CD8a. Se encontraron dos poblaciones claramente diferenciadas por los marcadores CD11c, MHC clase II y B220. Las LP DC endocitaron Dx-FITC in vitro e in vivo después de su administración oral. También, procesaron y presentaron OVA y estimularon la proliferación de LTt. Además, la transferencia a receptores singéneos de LPDC cargadas con OVA indujo expansión clonal y activación de LTt. Las LPDC constituyen una población heterogénea con alta eficiencia para la endocitosis y presentación de antígenos administrados oralmente y para la activación de los linfocitos T.

- 176. (771) ALTERACIONES EN EL TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A BRONQUIOS (BALT) PRODUCIDAS POR LA INFECCION CON TRICHINELLA SPIRALIS.** VERZOLETTI MARÍA, FRECHA Cecilia, ROUX María, VENTURIELLO Stella.

Cátedra de Inmunología, Laboratorio de Inmunología Celular-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

En triquinelosis la interacción parásito-pulmón debe aún ser dilucidada. El objetivo de este estudio fue determinar, si en ratas infectadas por vía oral con larvas de *Trichinella spiralis*, existe alteración del BALT con producción de inmunoglobulinas (Igs) en lavado broncoalveolar (LBA) antes del pasaje de la larva recién nacida (LRN) a través del pulmón. Cortes histológicos de pulmón de ratas Wistar normales (n=5) e infectadas (n=5), al día 6 post-ingesta, fueron procesados por la técnica de Sainte Marie. Mediante inmunofluorescencia (IF) se detectaron en BALT linfocitos: B IgA+ e IgE+ y T CD5+, CD4+, CD8aa+, CD8ab+, TCRgd+ y TCRab+. En LBA se determinaron IgA e IgE por ELISA de captura y anticuerpos anti productos del parásito por ELISA indirecto. Resultados: -Por IF: X±ES del N° de células /15 campos de normales vs infectadas (test de Student). Linfocitos B IgE+: 201±47 vs 401±8 (P< 0.0009); linfocitos T CD4+: 185±18 vs 528±65 (P< 0.001) y CD5+: 333±19 vs 684±77 (P< 0,0017). No se observaron diferencias significativas en los linfocitos B IgA+ ni en los T CD8aa+; CD8ab+; TCRgd+; TCRab+. -En LBA no hubo diferencias en los niveles de IgE e IgA entre ambos lotes ni se detectaron anticuerpos específicos. -Previo al pasaje de la LRN a través del pulmón existen alteraciones en el BALT. -En esta etapa temprana de la infección, a pesar de observarse una respuesta Th2 en el BALT, no se detectó un aumento de Igs en la secreción broncoalveolar.

- 177. (805) ALTERACIONES EN LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN PACIENTES CON PROSTATITIS CRÓNICA NO BACTERIANA AUTOINMUNE.** MOTRICH RUBEN D, MOLINA Rosa, TISSERA Andrea, MINUZZI Gustavo, OLMEDO José, MACCIONI Mariana, RIERA Clelia, RIVERO Virginia.

Inmunología. Departamento de Bioquímica Clínica. UNC FUCDIM (Fundación Urológica de Córdoba), LAR (Laboratorio de Andrología y Reproducción)

La prostatitis crónica no bacteriana (NBP) es una patología de etiología desconocida, que afecta a hombres jóvenes y se ha asociado con infertilidad. El objetivo de este trabajo fue analizar si pacientes con NBP (n=23) presentan alteraciones en distintos parámetros de calidad espermática. Estudios realizados en paralelo permitieron evidenciar una respuesta autoinmune contra antígenos prostáticos en 5/23 pacientes (Grupo 1) que no fue detectada en los restantes 18/23 (Grupo 2). Un grupo de hombres sanos sin sintomatología prostática fue analizado como control (Grupo 3). La concentración de ácido cítrico, parámetro dependiente de la funcionalidad prostática, mostró valores inferiores a los normales en muestras del Grupo 1 y 2. Análisis de parámetros fisicoquímicos (pH, volumen, viscosidad) no mostraron diferencias entre los grupos estudiados. Sólo se detectaron anticuerpos antispermatozoides en semen de un paciente perteneciente al

Grupo 2. Es interesante destacar que sólo pacientes del grupo 1 mostraron una disminución significativa (p<0.05) en la calidad espermática (concentración, movilidad, porcentaje de traslativos rápidos) con respecto al grupo control, con alteraciones en la morfología (criterios OMS-Kruger) y aumento en el porcentaje de espermatozoides muertos. Este trabajo demuestra por primera vez que pacientes con NBP que presentan respuesta autoinmune contra antígenos prostáticos tienen alteraciones en la calidad del semen, no asociadas a anticuerpos antispermatozoides.

- 178. (1126) EL ACO MO ANTI-CD44 IM7 REDUCE LA EXPRESION DE LA SINTETASA INDUCIBLE DE OXIDO NITRICO Y LA ACTIVIDAD DE METALOPROTEASAS EN UN MODELO MURINO DE INFLAMACION TIPO ARTRITIS.** CABRERA PAULA VERÓNICA, BLANCO Guillermo, GRECZANIK Sofía, ALANIZ Laura, LUZZI Renata, HAJOS Silvia.

Cátedra de Inmunología. IDEHU. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires

Se ha descrito que el ácido hialurónico (AH) influye sobre la producción de mediadores inflamatorios como TNF, IL-1 β , la sintetasa inducible de óxido nítrico (iNOS) y las metaloproteasas (MMP). No obstante, la mayoría de los estudios se llevaron a cabo in vitro y aún se desconoce si algunos de estos efectos dependen de CD44, el principal receptor de AH. Nuestro objetivo fue investigar en un modelo murino de inflamación tipo artritis el efecto de la inyección in vivo en el sitio inflamatorio del AcMo IM7 anti-CD44, sobre la producción de estos mediadores. Los ratones se inyectaron con zymosan y 40 horas después se inyectó el AcMo IM7, inmunoglobulina de rata (control de isotipo) o PBS, sacrificándose los animales 8 horas más tarde. El análisis por RT-PCR en los leucocitos del exudado mostró que el IM7 inhibió la expresión de ARNm de iNOS y no produjo efectos importantes sobre el nivel de TNF e IL-1 β , en relación a los controles. Además, por zymografías se observó que el AcMo IM7 disminuyó la actividad de MMP en los sobrenadantes del exudado con respecto a los controles. Este estudio demuestra por primera vez la participación de CD44 en la inducción de iNOS y destaca la importancia que puede presentar este mecanismo in vivo. También pone en evidencia la influencia de CD44 in vivo sobre la actividad de metaloproteinasas. En cambio, en este modelo y en estas condiciones la producción de IL-1 β y TNF no fue dependiente de CD44

REPRODUCCIÓN II

- 179. (482) EXPRESIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE BCL-2 EN OVARIO DE RATA TRATADAS CON UN AGONISTA DE GnRH.** PARBORELL FERNANDA, IRUSTA Griselda, GONZALEZ Olga, ABRAMOVICH Dalhia, VITALE Alejandra, TESONE Marta.

Instituto de biología y medicina experimental. Buenos Aires

Nuestro objetivo fue analizar el efecto in vivo de un agonista de GnRH en la expresión de las proteínas Bax (proapoptótica) y Bcl-2 (antiapoptótica) en ovario de ratas superovuladas. Métodos: Ratas superovuladas (PMSG) fueron divididas en dos grupos: Control (C) y grupo LA, tratado con GnRH-a cada 12 hs durante 48 hs. Los animales se sacrificaron luego de 48 hs de la administración de PMSG. Se realizaron cortes histológicos de ovarios para inmunohistoquímica de Bax y Bcl-2. Resultados: Se observó que en ambos grupos, en folículos preovulatorios (FPO), antrales tempranos (FAT) y preantrales (FP), Bax se localiza principalmente en el citoplasma de las células de granulosa peri-antrales más que en las células de granulosa murales; en células de la teca la señal para Bax es leve en relación a la intensidad observada en células de granulosa. Por otro lado, Bcl-2 se localiza en forma dispersa en células de granulosa y más intensamente en células de la teca. Se cuantificó % de células de granulosa marcadas, mostrando que el tratamiento con LA no produce cambios (Bax; FPO=C:10,8±2,1; LA:11,5±5,1; FAT=C:10,6±5,01; LA:14,6±5,9; FP=C:14,8±5,06; LA:13,5±5,1; Bcl-2; FPO=C:30,02±3,7; LA:32,7±2,2; FAT=C:36,2±7,2; LA:27,1±2,9; FP=C:20,01±4,1; LA:26,1±2,2). La intensidad de marca de Bcl-2 y Bax difiere en células de granulosa con respecto a las tecales, sin embargo la

administración de LA no modifica el % de células marcadas para ambas proteínas en FPO, FAT o FP.

- 180. (487) EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS CLAVES EN LA ESTEROIDOGÉNESIS OVÁRICA (STAR Y P450SCC) LUEGO DEL TRATAMIENTO CON UN AGONISTA DE GNRH EN RATAS PREPÚBERES.** IRUSTA GRISELDA, PARBORELL Fernanda, PELUFFO Marina, VITALE Alejandra, PULAK M, STOCO Douglas, TESONE Marta.

Instituto de Biología y Medicina Experimental. Buenos Aires

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto agudo de un agonista de GnRH (LA) en la expresión de dos proteínas claves de la esteroidogénesis, P450scc y StAR (proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda), en ovario de ratas superovuladas. Métodos: Ratas estimuladas con PMSG fueron divididas en: grupo Control (C), con SF y grupo LA, tratado con una sola dosis LA. Los animales se sacrificaron a las 0, 2, 4 y 8 hs luego de la administración subcutánea de LA. Se extrajeron los folículos antrales para extracción de ARNm y proteínas. Resultados: Por Western Blot, se observó que PMSG induce un aumento de STAR luego de 4 y 8 hs de la última inyección hormonal. La coadministración de PMSG con LA causó un aumento significativo de los niveles de StAR comparado al grupo C a las 2, 4 y 8 hs después de haber comenzado el tratamiento. Con respecto a los niveles proteicos de la P450scc, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos experimentales en los diferentes tiempos estudiados. También, se analizó el ARNm por RT-PCR semicuantitativa. Se observó que los niveles de transcritos de StAR aumentan a las 2 y 4 hs en el grupo C. Además, la administración de PMSG+LA causó un mayor aumento en relación a los C del transcritos de StAR a las 2 y 4 hs. A las 8hs, los transcritos de StAR disminuyen en ambos grupos. LA aumentaría los niveles de StAR y esto se correlaciona con el aumento en los niveles de progesterona tisular observada en estudios anteriores.

- 181. (554) PARTICIPACIÓN DE LAS ERK 1/2 EN LA INHIBICIÓN DE LA ESTEROIDOGÉNESIS INDUCIDA POR EL COLÁGENO TIPO IV (C-IV) EN LAS CÉLULAS DE LEYDIG (CL) DE RATA ADULTA.** DIAZ EMILCE S., PELLIZZARI Eliana*, CASANOVA Marta B, CIGORRAGA Selva*, DENDUCHIS Berta.

*CIR, Facultad de Medicina, UBA, *CEDIE-CONICET, Hospital de Niños "Ricardo Gutiérrez", Bs. As. Arg.*

Previamente, describimos que el C-IV activa tirosina quinasas que regulan negativamente la producción de testosterona (T) en CL. En este trabajo hemos estudiado, si las proteínas ERK1/2 participan en la inhibición inducida por el C-IV. Se aislaron CL de rata adulta, se cultivaron durante 90 min. ó 3 hs, en placas cubiertas o no con C-IV con o sin hCG (10 ng/ml) y 0.5 µM de PD98059 (PD) (bloqueante de MEK). En las células cultivadas sobre C-IV se observó una inhibición de la secreción de T (ng/10((6)) células), en condiciones basales: sin C-IV: 9,71±0.28 vs. C-IV: 5,9 ±0.14; en presencia de hCG: sin C-IV: 147,17±3.7 vs. C-IV: 110.5±5.6 (X±ES, *p<0.001). El PD revertió el efecto inhibitorio del C-IV sobre la secreción de T, en condiciones basales: C-IV: 5,9 ±0.14 vs. C-IV + PD: 10,2 ±1; en presencia de hCG: C-IV: 110.5±0.56 vs. C-IV + PD98059: 150,3.76 (X± ES, *p<0.001). En ensayos de adhesión se observó que ERK participa en el aumento de la adhesión producida por C-IV: sin C-IV: 0.15±0.01, C-IV: 0.43±0.03#, C-IV + PD: 0.34±0.02* (X±ES, #,*p<0.001). El grado de adhesión celular no se modificó en las células cultivadas sobre plástico con o sin PD. La viabilidad celular no se modificó en ninguna de las condiciones estudiadas. En conclusión, los resultados sugieren que la activación de ERK 1/2, como consecuencia de la interacción C-IV con las integrinas, estaría involucrada en el aumento de la adhesión celular y en la inhibición de la esteroidogénesis inducida por C-IV en CL.

- 182. (705) LA INTERLEUKINA-18 MODULA LA EXPRESIÓN DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA Y CICLOOXIGENASA EN EL OVARIO DE RATA.** ESTÉVEZ ALEJANDRA, TOGNETTI Teresita, MOTTA Alicia.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYO)-CONICET. Buenos Aires

En trabajos previos hemos encontrado que la IL-1β regula la síntesis de progesterona y prostaglandina F2α (PGF2α) en un mecanismo dependiente de óxido nítrico (NO). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar en detalle el mecanismo de acción de IL-1β en el ovario de rata. Modelo Animal: modelo de la rata pseudopreñada en el cual se administra 15 UI PMSG/ rata (i.p.) induciendo un CL funcional por 9±1 días. Cultivos: ovarios de ratas en fase media del desarrollo luteal fueron cultivados en presencia ó ausencia de IL-1β (15, 25, 35 ng/ml) a distintos tiempos (1,4,8 horas). Se ensayó el contenido de PGF2α en sobrenadantes de cultivo por radioinmunoensayo y en el tejido se evaluó por Western Blot la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y de la proteína clave en la síntesis de prostaglandinas, la ciclooxigenasa-II (COX-II). La IL-1β aumentó significativamente y en forma dosis dependiente (p<0,001) la producción de PGF2α, a partir de las 4 horas de incubación (control 5,85± 1,01; IL-1β: 15ng/ml 10,24±0.71; 25ng/ml 15,08±1,19; 35ng/ml 17.75±1.20). Paralelamente, el tratamiento con IL-1β (25ng/ml) incrementó los niveles de COX-II e iNOS a las 4 y 8 horas de incubación. En el ovario, la IL-1β aumentaría la síntesis de prostaglandinas 1- induciendo la expresión de la COX-II directamente y a la vez 2- podría activarla a través de un incremento en los niveles de NO, ya que el tratamiento con IL-1β aumentó la expresión de la iNOS.

- 183. (716) ESTUDIOS MOLECULARES DEL GEN DEL RECEPTOR DE FSH (FSHR) EN PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIO RESISTENTE (ROS) Y FALLA OVÁRICA PREMATURA (POF).** SUNDBLAD VICTORIA, CHIAUZZI Violeta, DAIN Liliana, CHARREAU Eduardo.

Instituto de Biología y Medicina Experimental Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA, Centro Nacional de Genética Médica (ANLIS), Bs. As.

Diversas mutaciones y/o polimorfismos han sido descritos en el gen del FSHR en pacientes con POF y/o ROS. Previamente informamos que los exones 1 al 5 y la región N-terminal del exón 10 no estarían asociados con la presencia de POF y ROS en nuestra población. En este trabajo completamos la búsqueda de mutaciones en los exones 6, 7, 8, 9 y en la región C-terminal del exón 10. Se analizaron muestras de ADN de 6 pacientes ROS, 13 POF y 43 controles (C). Las regiones de interés se amplificaron por PCR y los exones 6 al 9 se analizaron por SSCP. En ningún caso observamos patrones de migración anormales al comparar pacientes con controles. El exón 10 se estudió por secuenciación directa en el total de los pacientes y en 5C. Se evidenció la presencia del polimorfismo G2039A (Ser680Asn), el cual fue estudiado en los demás controles por digestión con la enzima Bsr I. Las frecuencias alélicas halladas fueron: C: 0,55 A y 0,45 G; POF: 0,58 A y 0,42 G y ROS: 0,50 A y 0,50 G. Observamos que este polimorfismo cosegrega en el 100% de los casos con la variante G919A, confirmando que el FSHR presenta dos isoformas: Ala((307))-Ser((680)) y Thr((307))-Asn((680)). Ninguna de estas isoformas se asocia a la presencia de POF ó ROS (OR[[POF]] =0,96 IC 95%: 0,37-2,45; OR[[SOR]] = 0,83 IC 95%: 0,21-3,21). Por lo expuesto, y considerando nuestros resultados previos, concluimos que el desarrollo de estas enfermedades no podría explicarse por alteraciones en el gen del FSHR en las pacientes estudiadas.

- 184. (840) ROL DE 15DPG2 Y PPARGAMMA EN LA FIBROSIS TESTICULAR ASOCIADA A INFERTILIDAD MASCULINA.** FRUNGIERI MÓNICA B, GONZALEZ-CALVAR Silvia, MEINEKE Viktor, KOHN Frank, CALANDRA Ricardo, MAYERHOFER Artur.

Instituto de Biología y Medicina Experimental-Conicet IBYME-Conicet, Buenos Aires, Argentina; LMU, Munich, Alemania.

Las prostaglandinas (PGs) participan en la regulación de la función reproductiva, pero su rol en el testículo permanece sin esclarecer. En este trabajo se evaluó la presencia de la enzima ciclooxigenasa (COX, clave en la biosíntesis de PGs) y receptores de PGs, en el testículo de roedores y humanos. No se detectó expresión de la isoforma constitutiva de la enzima (COX1); mientras que, la isoforma inducible (COX2), fue identificada en testículos de

hámsteres y en biopsias humanas de pacientes infértiles con diferente etiología. Empleando RT-PCR y microdissección por láser, se detectaron receptores de PGs en el testículo (DP, FP, EP1/2/3/4, PPARgamma). La pared de los túbulos seminíferos (formada por fibroblastos y colágeno), posee receptores de PGs, y muestra fibrosis en pacientes infértiles. Para estudiar el rol de las PGs en este proceso, usamos una línea celular de fibroblastos humanos (hFF2). 15dPGJ2 estimula la proliferación de hFF2 (control: 279.1 +/- 13.2; 15dPGJ2 10((-6))M: 585.6 +/- 33.7 unidades arbitrarias, n=16, p<0.05; Cell Proliferation Assay, Promega), efecto bloqueado por BADGE (10((-6)) M), un antagonista de PPARgamma. Mediante RT-PCR y cDNA-array, se identificó que 15dPGJ2 estimula la expresión de Egr-1 (early growth response-1 gene) en hFF2. Nuestros resultados demuestran que 15dPGJ2, vía PPARgamma y Egr-1, participarían en el desarrollo de la fibrosis testicular, y por lo tanto, en la patogénesis y/o mantenimiento de la infertilidad idiopática masculina.

- 185. (1171) EXPRESION Y DISTRIBUCION DE GALECTINA-1 DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS EN TESTICULO DE RATA POST-NATAL EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS Y PATOLÓGICAS.** MALDONADO CRISTINA, DETTIN Luis, RUBINSTEIN Natalia, TOSCANO Marta, RIVAL Claudia, LUSTIG Livia, RABINOVICH Gabriel.

Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Medicina, Univ. Nac. Córdoba, Lab Inmunogenética, Hosp Clínicas, y Centro de Inv. en Reproducción, Fac Med, UBA

Galectina-1 (Gal-1) es una proteína inmunosupresora capaz de inducir apoptosis de linfocitos T. En función de su localización preferencial en sitios inmunoprivilegiados, en el presente estudio investigamos la expresión y distribución de Gal-1 en testículo de rata (9-60 días) durante la espermatogénesis y el desarrollo de la orquitis autoinmune experimental (OAE). Por Western blot se observó regulación de la expresión de Gal-1 en diferentes estadios del desarrollo testicular. Por inmunohistoquímica (oro coloidal) observamos marcación en células de Sertoli en los estadios X-II de la espermatogénesis y en células del intersticio. En estadios VI-VIII, se observó una marcada tinción en el polo luminal del epitelio seminífero, localizado en los extremos apicales de las células de Sertoli, en las cabezas de los espermátides maduras y en cuerpos residuales. Se detectó intensa inmunomarcación en espermatozoides luminales. Luego del estadio VIII se recuperó la expresión de Gal-1 en la porción basal de células de Sertoli. Estudios de inmunomicroscopía electrónica confirmaron la localización de Gal-1 en núcleos y proyecciones citoplasmáticas de estas células y en cabezas de espermátides tardías. Observamos además disminución de la expresión de Gal-1 durante la progresión de la OAE en ratas inmunizadas con antígenos espermáticos. La expresión regulada de Gal-1 en condiciones fisiológicas y patológicas sugiere un rol para esta proteína en procesos de privilegio inmunológico en testículo.

CARDIOLOGÍA II

- 186. (492) EVOLUCION DE LA ACTIVIDAD MECANICA DEL MUSCULO CARDIACO EN RATAS SOMETIDAS A HIPOXIA HIPOBARICA CRONICA.** LA PADULA PABLO, COSTA Lidia E.

Instituto de Investigaciones Cardiológicas. (ININCA). Instituto de Investigaciones Cardiológicas. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires.

La adaptación a la hipoxia hipobárica tendría un efecto cardioprotector. Para evaluar la capacidad funcional del miocardio durante la vida en condiciones de hipoxia, ratas de 1.5 meses fueron sometidas a 5000 m de altura simulada en cámara de hipopresión (H) e igual número de ratas a presión atmosférica ambiental (C). Al cabo de 1, 10, 26, 45 y 74 semanas los músculos papilares del ventrículo izquierdo (5 ratas de cada grupo) fueron montados en cámaras con buffer Krebs a 30° C equilibrado con 95% O₂ y 5% CO₂ a pH 7.4, estimulados a 0,2 Hz a longitud

máxima en condiciones isométricas. La tensión desarrollada (TD), máxima velocidad de contracción (+T), máxima velocidad de relajación (-T), tiempo medio de relajación (TM) y tiempo a la tensión pico (TTP) fueron determinados mediante un sistema digital. Los valores de TD (g/mm((2))), +T (g/mm((2)).s) y -T (g/mm((2)).s) mostraron una marcada atenuación en H de la declinación que tuvo lugar con la edad en C, siendo las diferencias (53-65 %) significativas (p < .05) a las 26 y 45 semanas, período durante el cual ambas curvas se mantuvieron estables, mientras que a las 74 semanas los valores de H disminuyeron a los niveles de C. TM y TTP fueron similares en ambos grupos. La adaptación del miocardio a las condiciones de hipoxia estudiadas se manifiesta por una menor declinación en su capacidad contráctil con la edad y se pierde durante el envejecimiento.

- 187. (565) EFECTO DEL CANDESARTAN EN EL TEJIDO CAVERNOSO DE RATA ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSA.** TOBLLI JORGE, STELLA Inés, MAZZA Osvaldo, FERDER León, INSERRA Felipe.

Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán ININCA. Buenos Aires

Previamente nuestro grupo demostró alteraciones morfológicas en tejido cavernoso (TC) en rata espontáneamente hipertensa (SHR) macho. El objetivo actual fue determinar si un bloqueante del receptor de Ang II puede controlar dichas alteraciones. Durante 4 meses: G1 SHR (n=10) agua, G2 SHR (n=10) con candesartan (C) 7.5mg/kg/día; G3 WKY (n=10) agua. Se analizó TC con H&E; Masson, antiactina músculo liso (SMA), anticolágeno III (Col III). Se evaluó: 1) Proliferación de músculo liso cavernoso (CSM) y vascular (VSM), 2) Fibrosis TC y 3) cantidad Col III. Al finalizar el experimento SHR+C presentaron menor: 1) Presión arterial (PA) (130.7 ± 4 vs. 194.6 ± 3.6 mmHg; <.01), 2) Proliferación CSM (0.6 ± 0.2 vs. 2.7 ± 0.6; <.01), 3) Proliferación VSM (0.7 ± 0.2 vs 2.5 ± 0.5; <.01), 4) Fibrosis TC (0.8 ± 0.2 vs. 2.6 ± 0.05; <.01), 5) Col III (0.4 ± 0.3 vs. 2.8 ± 0.2; <.01) al comparar con SHR no tratadas. Además, SHR presentaron correlación entre PA y proliferación CSM (r= 0.89; p<.01); PA y fibrosis TC (r= 0.86; p<.01); y PA y Col III (r= 0.80; p<.01), estas correlaciones no se observaron en SHR+C. Estos resultados sugieren que C produciría un significativo control de los cambios morfológicos en vasos y CSM del TC, producidos por la hipertensión arterial.

- 188. (581) REGRESIÓN DE LA FIBROSIS MIOCÁRDICA POR INHIBICIÓN DEL INTERCAMBIADOR NA+/H+ (NHE) EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS (SHR).** PÉREZ NÉSTOR GUSTAVO, REBOLLEDO Oscar R, PORTIANSKY Enrique L, CAMILIÓN DE HURTADO María C, CINGOLANI Horacio E.

Centro de Investigaciones Cardiovasculares. La Plata

El tratamiento crónico por un mes con un inhibidor del NHE produce regresión de la hipertrofia cardíaca en SHR, aunque la fibrosis y la rigidez miocárdica permanecen elevadas. El objetivo de este trabajo fue determinar si un tratamiento más prolongado puede también disminuir la fibrosis y la rigidez. Se trataron SHR con cariporide (3.0 mg/kg/día) y su efecto fue evaluado luego de 1, 2 o 3 meses mediante análisis post-mortem. La presión arterial (PA) cayó mínimamente (-6 mmHg) luego de un mes, manteniéndose sin variaciones de allí en adelante. A un mes de tratamiento los miocitos ventriculares normalizaron su área transversal (AT), pero la fracción de colágeno, los niveles serológicos del propeptido del procolágeno I (PIP) y la rigidez del miocardio permanecieron elevadas. Durante los próximos dos meses de tratamiento el AT de los miocitos permaneció normal y la fibrosis, la rigidez de la pared y el PIP cayeron progresivamente hasta el nivel normal. El peso del ventrículo izquierdo disminuyó al cabo de un mes desde 843 ± 25 mg en las SHR no tratadas (n=10) a 717 ± 50 mg en las tratadas (n=7, P<0.05), cancelando la diferencia con las ratas normotensas (670 ± 34 mg, n=7). Durante los 2 meses siguientes, la masa cardíaca solamente continuó incrementándose en las SHR no tratadas. Los presentes resultados permiten concluir que el tratamiento prolongado con un inhibidor del NHE normaliza el colágeno intersticial y la rigidez miocárdica, con cambios mínimos en la PA.

189. (588) PROTECCIÓN DEL MIOCARDIO CONTRA LA ISQUEMIA/ REPERFUSIÓN POR ESTIRAMIENTO: ROL DE LOS CANALES DE KATP MITOCONDRIALES. MOSCA SUSANA MARÍA, CINGOLANI Horacio Eugenio.

Centro de Investigaciones Cardiovasculares. La Plata

El objetivo de este estudio fue determinar si los canales de KATP mitocondriales (KATP mito) participan en el efecto protector producido por el estiramiento en el corazón aislado de rata. Se realizaron 3 grupos: GI: después de 25 min de estabilización se realizó una isquemia global (Is) de 20 min + 30 min de reperfusión; GII: antes de la Is se realizó un ciclo de estiramiento (E) y desestiramiento de 5 y 10 min; GIII: 10 min antes del E se administró 5-hidroxicarboxilato (5-HD) 100 mM, bloqueante de KATP mito. La contractilidad se evaluó a través de la presión desarrollada (PD) y la +dP/dtmax y la función diastólica a través de la presión diastólica final (PDF). El E se produjo aumentando el volumen del balón hasta que la PDF alcance valores de 40 mmHg. En el efluente coronario se midió LDH (lactato deshidrogenasa) y en los corazones se determinó el contenido de ATP y PC. Al final de la reperfusión la PD y la +dP/dtmax se recuperaron $61 \pm 6\%$ y $53 \pm 6\%$ en GI y aumentaron significativamente con el E (PD= $87 \pm 4\%$; +dP/dtmax = $92 \pm 6\%$), resultado que no se modificó por el bloqueo de los KATPmito. El aumento de la PDF observado en GI fue atenuado por el E, aún en presencia de 5-HD. El E produjo una menor liberación de LDH y un aumento de ATP y PC, aún después del tratamiento con 5-HD. Nuestros resultados demuestran que los KATP mito no participan en la cascada de eventos desencadenados por el estiramiento y que conducen a la protección del miocardio en isquemia y reperfusión.

190. (590) EFECTO INOTRÓPICO POSITIVO DE LA ANGIOTENSINA II (ANGII): ROL DE LA ENDOTELINA (ET) ENDÓGENA. DULCE RAUL ARIEL, PÉREZ Néstor G, CAMILIÓN DE HURTADO María C, CINGOLANI Horacio E.

Centro de Investigaciones Cardiovasculares. La Plata

Se ha propuesto que el efecto inotrópico positivo (EIP) de AngII es causado por aumento del transiente de Ca^{2+} (Ca^{2+}_T) por aumento de la corriente de Ca^{2+} y por alcalinización intracelular. Esto parece estar en desacuerdo con el mecanismo autocrino/paracrino inducido por el estiramiento miocárdico, responsable de la segunda fase de aumento de fuerza (SFF), que incluye liberación de AngII que provoca liberación de ET, esta activa al intercambiador Na^+/H^+ (NHE), aumenta la $[Na^+]_i$, esto facilita el modo inverso del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (NCXinv) y aumenta el Ca^{2+}_T . Este trabajo intenta probar que este mecanismo autocrino/paracrino participa en el EIP que causa AngII a concentraciones que aumentan la fuerza como la SFF (~25%). Se usaron músculos papilares de gato en los que se midió fuerza y $[Na^+]_i$. AngII (1 nM) causó un EIP de $123.4 \pm 2.1\%$ del control (n=4, $P < 0.05$) y elevó la $[Na^+]_i$ en 2.2 ± 0.2 mmol/L (n=4, $P < 0.05$). Similares EIP ($121.4 \pm 1.1\%$ del control, n=4, $P < 0.05$) y aumento de $[Na^+]_i$ (2.4 ± 0.4 mmol/L, n=4, $P < 0.05$) se obtuvieron con 1 nM de ET-1. El bloqueo del NHE y del NCXinv canceló el EIP de AngII y de ET. El bloqueo de receptores de ET casi eliminó el EIP de AngII ($105.7 \pm 3.5\%$ del control, n=4). Los resultados sugieren que el EIP de AngII a dosis bajas, involucra liberación de ET endógena, siendo el aumento de la $[Na^+]_i$ por activación del NHE y la secundaria activación del NCXinv el mecanismo del aumento del Ca^{2+}_T que induce inotropismo positivo

191. (626) CITOPROTECCIÓN POR MELATONINA Y HORMONA DE CRECIMIENTO EN EL INFARTO DE MIOCARDIO EN RATAS. CASTAGNINO HUGO E., LAGO Néstor, CENTRELLA José M., CALLIGARIS Silvana D., FARIÑA Silvia, SARCHI María I., CARDINALI Daniel P.

Departamento de Fisiología y Dep Patología, Fac Medicina, UBA, Dep. Matemática, Fac Farmacia y Bioquímica, UBA

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto citoprotector de la melatonina con el de la hormona de crecimiento humana

(hGH) en una fase temprana del infarto de miocardio en ratas mediante el uso de la coloración de Feulgen. Se estudiaron ratas 3 h después de una ligadura quirúrgica de la arteria coronaria izquierda o de su operación simulada. La melatonina fue administrada en el agua de bebida (100 µg/ml) durante 7 días, mientras que hGH (2 IU/kg) fue administrada i.p. en el momento de la cirugía. El análisis mediante microscopía óptica y analizador de imágenes indicó en ratas infartadas lesiones cardíacas grandes y difusas, con marcada positividad para el reactivo de Feulgen, alcanzando 18 - 20 % del área total estudiada. Las ratas infartadas tratadas con melatonina, hGH o la combinación de ambas, presentaron lesiones aisladas y limitadas, con pocas fibras musculares lesionadas. La efectividad de cada tratamiento (media \pm SD, n= 10/grupo) fue semejante, disminuyendo la extensión y número de lesiones en 65 - 87 % ($p < 0.001$, ANOVA): área en $\mu(2)$, nº de lesiones: control: 0, 0; infarto: 170551 ± 117923 , 13.5 ± 4.9 ; infarto-melatonina: 24596 ± 15933 , 3.4 ± 2.4 ; infarto-hGH: 25042 ± 18399 , 2.8 ± 1.8 ; infarto-melatonina-hGH: 23102 ± 11735 , 3.1 ± 2.1). Estos resultados indican un efecto citoprotector significativo de la melatonina en el infarto de miocardio en ratas.

192. (635) LA PRESIÓN ARTERIAL Y EL SISTEMA DEL ÓXIDO NÍTRICO EN RATAS CON UNA DIETA DEFICIENTE EN ZINC. ARRANZ CRISTINA, TOMAT Analía, WEISSTAUB Adriana, MARIANESCHI Rosario, BALASZCZUK Ana, COSTA María de los Angeles.

Cátedra de Fisiología, Cátedra de Nutrición, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. IQUIMEFA-CONICET.

El Zn 2+ es necesario para mantener la integridad de la célula endotelial y su metabolismo podría estar involucrado en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial. Objetivo: Estudiar el sistema del óxido nítrico (NO) y los cambios en la presión arterial sistólica (PAS) en ratas que recibieron: Grupo 1: Dieta control (30 ppm Zn 2+) y grupo 2: Dieta deficiente en Zn 2+ (8 ppm Zn 2+) durante su crecimiento (desde el destete hasta la adultez). Se determinó la PAS (mmHg) cada 15 días durante 2 meses. Al finalizar este período los animales fueron sacrificados y se les extrajeron arteria aorta, médula y corteza renales para determinar la actividad de la NO sintasa (NOS: pmol/g de tejido) con L-[14C]-arginina luego del agregado de carbacol (1µM). * $p < 0.001$

	PAS				Actividad NOS		
	15 días	30 días	45 días	60 días	Médula	Corteza	Arteria aorta
Dieta control	101±6	124±6	131±7	129±2	661.07±5.93	510.06±5.29	383.95±18.51
Dieta deficiente	118±2	147±6*	154±5*	149±2*	501.75±10.54*	403.84±9.08*	281.43±10.16*

Los animales que recibieron la dieta deficiente en Zn 2+ presentaron una mayor PAS a partir de los 30 días de iniciado el tratamiento y una caída en la actividad de la NOS. La deficiencia de Zn2+ induce una disminución de la actividad de NOS que podría ser uno de los mecanismos que conducen al aumento de PAS observado.

193. (638) ESTUDIO DE LOS EFECTOS CARDIOVASCULARES INDUCIDOS POR LA INHIBICIÓN DEL SISTEMA DEL ÓXIDO NÍTRICO. DI VERNIERO CARLA, VINZIO Noelia, ARZA Patricia, TOMAT Analía, VARELA Alicia, FELLET Andrea, ARRANZ Cristina, BALASZCZUK Ana.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, IUCSBarceló, IQUIMEFA-CONICET

El óxido nítrico regula el tono vascular y la función cardíaca. Antes mostramos que un inhibidor de la óxido nítrico sintasa (bolus L-NAME: 7.5mg/kg) induce un cronotropismo positivo en ratas con bloqueo del sistema autónomo. Objetivo: a) evaluar in vivo el efecto de diferentes dosis de L-NAME sobre la frecuencia cardíaca (FC: lpm) y la presión arterial (PAM: mmHg) en ratas vagotomizadas+ hexametonio (10 mg/kg, cada 20min)+fenilefrina (4-6mg/kg/min). Grupo (G)A: L-NAME 5mg/kg y GB: 10 mg/kg. Se eva-

luaron la FC y PAM (30 min posteriores a la inyección). Resultados (Ra):(FC: A:31±4; B:35±4)y(PAM: A:45±5; B:44±9).El incremento de la FC y de la PAM por L-NAME no mostró diferencias con respecto a la dosis de 7.5mg/kg(FC:34±3;PAM:38±3), b)evaluar in vitro, luego de 30min el efecto del L-NAME (500 mM) sobre la actividad inotrópica (T) y cronotrópica(F)de aurícula aislada (aa);GC:aa de ratas decapitadas sin tratamiento previo;GD: aa de ratas decapitadas sometidas previamente al bloqueo autonómico.Rb:T y F se expresaron como % de cambio con respecto a los valores basales de T y F. El L-NAME no modificó el latido espontáneo ni tampoco la actividad contráctil en C y D. GC:T=9%;F=6%, GD:T=11%;F=7%. Conclusión:la respuesta cardiovascular inducida por el L-NAME in vivo no es dosis dependiente dentro del rango estudiado.Dado que in vitro, el L-NAME no altera la T ni la F sugiere que el incremento de la FC in vivo se debería a mecanismos neurohumorales y descarta un efecto directo sobre el marcapaso cardíaco

- 194. (649) INFLUENCIA DE LOS RECEPTORES B-CARDÍACOS Y DEL ÓXIDO NÍTRICO SOBRE LA FUNCIÓN CARDÍACA EN ANIMALES CON BLOQUEO DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO.** ARZA PATRICIA, VINZIO Noelia, DI VERNIERO Carla, FELLET Andrea, ARRANZ Cristina, BALASZCZUK Ana.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, IUCSBarceló, IQUIMEFA-CONICET

El óxido nítrico atenúa la respuesta B-adrenérgica en el corazón intacto y en miocitos aislados. Objetivo: evaluar si los receptores B-adrenérgicos influyen en esas respuestas. Estudiamos el delta de FC y PA en diferentes grupos de ratas macho anestesiadas: G1(n=14): vagotomía bilateral + bloqueo ganglionar con Hexametonio (H,10mg/kg) y la PA mantenida por una infusión iv de Fenilefrina(FF, 4-6mg/kg/min); G2(n=15): igual tratamiento que el G1 + bloqueo B-adrenérgico con propranolol (P, 3mg/kg); G3(n=7): vagotomía bilateral + P; G4(n=7): bloqueo ganglionar con H e infusión de FF + P. Todos los grupos recibieron L-NAME (bolus: 7,5 mg/kg). Las mediciones de FC y PA se realizaron antes de la inyección del L-NAME y a los 30 min. Resultados (Media±ES): el L-NAME produjo similares incrementos de la PA (mmHg) en todos los grupos (G1=38±3, G2=39±4, G3=25±2, G4=27±4).Se observó un efecto cronotrópico positivo (lpm) en todos los grupos (G1=34±3, G2=12±2**, G3=14±1*, G4=41±8) (**p<0.001 vs. G1; *p<0.01 vs. G1). G2 y G3 presentaron un menor incremento de FC que G1. Conclusión: 1) el aumento de PA inducido por el L-NAME es independiente del SNA y no se modifica por la administración del P 2) en los animales con bloqueo total del SNA y en los vagotomizados solamente, el efecto máximo cronotrópico positivo del L-NAME es atenuado por la administración de P. Los receptores B-adrenérgicos participan en el efecto taicardizante del L-NAME aún en condiciones de bloqueo preganglionar simpático

- 195. (738) ROL DE LA FOSFOLAMBAN (PLB) EN ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN: EVIDENCIAS OBTENIDAS EN ANIMALES TRANSGÉNICOS.** SAID MARÍA M., VITTONI Leticia, MUNDIÑA-WEILENMANN Cecilia, FERRERO Paola, KRANIAS* Evangelia, MATTIAZZI Alicia.

*Ctro Invest Cardiovasculares, UNLP, Argentina. * Univ of Cincinnati, College of Medicine, OH, USA.*

La fosforilación de la proteína del retículo sarcoplasmático (RS) PLB en Ser((16)) por PKA y en Thr((17)) por CaMKII, aumenta la retoma de Ca((2+)) por el RS y la relajación y contractilidad miocárdicas. En la rata, la injuria por isquemia y reperfusión (I/R) aumentó la fosforilación de PLB en Ser((16)) al final de I y Thr((17)) al inicio de R (J Mol Cell Cardiol 34: 39-50, 2002). La disponibilidad de ratones transgénicos que expresan la PLB intacta (WT), o las mutaciones Ser((16))-Ala (S16A) o Thr((17))-Ala (T17A) en el compartimiento cardíaco del ratón carente de PLB, provee una herramienta única para investigar el rol de la fosforilación de cada residuo de PLB en la I/R. Corazones de estos ratones aislados y perfundidos (Langendorff), se sometieron a 12 min de I global normotérmica y 30 min de R. Después de I la presión desarrollada por el ventrículo izquierdo se recuperó hasta 37,2± 8,1% (n=8) de los valores preisquémicos en WT. La recuperación fue

significativamente menor en los mutantes (S16A, 15,4± 5,0% n=10 y T17A 14,8± 5,8% n=6). La inmunodetección de la fosforilación de PLB mostró un aumento significativo de la fosforilación de Thr((17)) al inicio de R (72,9± 11,2% de la máxima fosforilación inducida por isoproterenol) en WT, sin cambios en la fosforilación de Ser((16)). Los resultados indican que aunque Thr((17)) fue el único residuo fosforilado, ambos residuos de PLB participan en la recuperación de la contractilidad después de I.

- 196. (742) SENSIBILIDAD DE LA MECÁNICA CARDÍACA A LA HIPOXIA Y REOXIGENACIÓN DURANTE LA MADURACIÓN Y EL ENVEJECIMIENTO.** LA PADULA PABLO, COSTA Lidia E.

Instituto de Investigaciones Cardiológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Los estudios sobre la respuesta del músculo cardíaco a la hipoxia/reoxigenación (H/R) en función de la edad son fragmentarios y contradictorios, en particular durante el envejecimiento. En el presente estudio se evaluó la tolerancia del miocardio a la H/R en 20 ratas de 8 (A), 33 (B), 80 (C) y 99 (D) semanas. Ambos músculos papilares del ventrículo izquierdo fueron aislados y montados en cámaras a 30° C con buffer Krebs equilibrado con 95%O₂ y 5%CO₂ a pH7.4y estimulados a 0,2 Hz en condiciones isométricas. La tensión desarrollada (TD), máxima velocidad de contracción (+T), máxima velocidad de relajación (-T), tiempo medio de relajación (TM), tiempo a la tensión pico (TTP) y tensión de reposo (TR) fueron determinados en condiciones basales y cada 10 min. durante 60 min. de H (95 % N₂ y 5 % CO₂) y 30 min. de R (95 % O₂ y 5 % CO₂). A los 10 min. de H, TD(g/mm(2)) fue un 25 % mayor en B que en los demás grupos (p < .001), mientras que a los 60 min. (TD 10-15 %) no hubo diferencias significativas. A, B y C se recuperaron 60-70 %, mientras que D sólo 23 % (p < .001). +T y -T(g/mm(2).s) tuvieron un comportamiento similar a TD. TR y TM no mostraron diferencias durante H en tanto que disminuyeron durante R en A (p < .01). Se concluye que la sensibilidad a la H/R de las funciones diastólica y sistólica se afectan de manera diferente durante la maduración y el envejecimiento.

- 197. (877) EFECTOS CENTRALES DE LA AGMANTINA (AGM) SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL (PA) Y LA FRECUENCIA CARDÍACA (FC)** FERNÁNDEZ BLANCO JAVIER E., PUENTES María N., BIANCIOTTI Liliana G., VATTA Marcelo S.

Cátedras de Fisiología y Fisiopatología (IQUIMEFA - CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

La AGM es un neurotransmisor que se une a receptores imidazólicos I1 e I2 y alostéricamente a los α₂-adrenérgicos. Se estudiaron los efectos de la inyección intracerebroventricular (ICV) de diversas dosis de AGM sobre la PA y la FC. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley (250 a 300 g) a las que se les implantó una cánula en el ventrículo lateral izquierdo 5 días antes de la determinación de PA directa. Se realizaron los siguientes grupos experimentales: a) control (1 μl/min de vehículo) y b) animales con distintas dosis de AGM (2 fg/μl/min; 0,01 y 0,02 pg/μl/min; 0,02 y 0,2 ng/μl/min; 0,02 y 0,2 μg/μl/min). Todos los valores presentados son significativos (p<0.05, Student t-test). Dosis de 2 fg/μl/min no modificaron la PA, en tanto que 0,01 y 0,02 pg/μl/min, disminuyeron la presión media (PM) 16%, presión sistólica (PS) 18%, presión diastólica (PD) 25%, y el tiempo de recuperación es de 40min. Dosis de 0,02 y 0,2 ng/μl/min, disminuyen la PM 31%, la PS 30%, la PD 32% y el tiempo de recuperación es de 60min. Dosis de 0,02 y 0,2 μg/μl/min, disminuyen la PM, PS y PD 33%, 29% y 37%, respectivamente y superan los 60min de recuperación. Dosis de 0,01 y 0,02 pg/μl/min y 0,02 ng/μl/min incrementan la FC mientras que en dosis de 0,2 ng/μl/min y 0,02 y 0,2 μg/μl/min, incrementan inicialmente la FC y luego la disminuye hasta un 10%. Los resultados nos permiten concluir que a inyección ICV de AGM disminuye la PA y modifica la FC de manera dosis dependiente.

- 198. (1078) LAS HORMONAS TIROIDEAS MODIFICAN LA PRESIÓN ARTERIAL INDEPENDIEMENTE DE LA TRH DIENCEFALICA.** SCHUMAN MARÍANO, CREMASCHI Graciela, LANDA María, ALVAREZ Azucena, GORELIK Gabriela, GENARO Ana, KLECHA Adriana, GARCÍA Silvia, PIROLA Carlos.

Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, Fac Medicina, UBA. CEFYBO

La TRH diencefálica regula la presión arterial (PA) y produce hipertensión en distintos modelos probablemente por un aumento de la descarga simpática. Para confirmar que este efecto es independiente del estado tiroideo, analizamos el efecto del estado de hiper e hipotiroidismo sobre la PA (método pletismográfico en 3 días sucesivos) y el contenido de TRH diencefálica y periventricular (RIA pg/mg prot). Se utilizaron ratones (n=6) hipertiroideos (T4, 40 ug/100g peso ip), hipotiroides (PTU, 5mg/100g en agua bebida). La efectividad de los tratamientos se verificó por cuantificación de T3 y T4. La T4 elevó la PA y no alteró el nivel de la TRH diencefálica y disminuyó la TRH periventricular con respecto a los controles eutiroideos (*p<0.01). El PTU no alteró la PA ni modificó los niveles de TRH diencefálica pero incrementó la TRH periventricular.

Grupo	T3 ng%	T4 ug%	PA mmHg	TRH periv	TRH diencef
Control	106±9	4.5±0.4	84±4	625±50	158±32
PTU	64±7*	<1.5±0.2*	95±7	1348±132*	134±20
T4	479±80*	28.7±1.7*	122±10*	309±38*	143±31

La hipertensión provocada por el estado hipertiroideo no involucra a la TRH diencefálica ni a la TRH periventricular del eje hipotálamo-pituitario-tiroideo.

199. (1080) EFECTOS DE LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN (I-R) SOBRE EL CORAZÓN PERFUNDIDO DE RATAS CON DIABETES INDUCIDA POR ESTREPTOZOTOCINA (STZ) EN DIFERENTES TIEMPOS DE EVOLUCIÓN. TESTONI GUSTAVO, GASTALDI Julieta, LIVORE Verónica, KIRCHHEIMER Carolina, VAZQUEZ Nancy, VARELA Alicia, SAVINO Enrique.

Cát. de Fisiología, Fac. de Fcia. y Bqca., UBA. Inst. de la Qca. y el Metab. del Fármaco, CONICET

El objetivo fue evaluar los efectos de la diabetes con distintos tiempos de evolución sobre la sensibilidad del miocardio de rata al daño producido por la I-R. Se utilizaron ratas Wistar tratadas con STZ 50 mg/kg iv. Los tiempos evaluados fueron 3, 6, 8 y 10 semanas (Grupos G3, G6, G8 y G10, todos n=6). Controles de la misma edad fueron inyectados con vehículo. Los corazones fueron perfundidos según Langendorff con medio Krebs-bicarbonato glucosa 10 mM. Luego de la estabilización todos los grupos fueron sometidos a 25 min de I y 30 min de R. Para un grupo de 6 semanas la I fue de 30 min. A distintos tiempos se registró la presión desarrollada ventricular izquierda (PDVI), la frecuencia (F), el producto PDVI x F, la presión diastólica final (PDF) y +/-dP/dT máximas. La estadística se hizo con ANOVA de 2 factores. Todos los grupos de ratas diabéticas sometidos a I de 25 min tuvieron una mejor recuperación durante la R que sus controles (para G6 con 25 de I, a los 30 min de R, PDVIx F: 83,0±13,1 vs 24,2±9,4 p<0,001; PDF: 1,8±5,8 vs 23,3±8,0 p<0,01; +dP/dT: 105,0±13,1 vs 24,5±9,6 p<0,001; -dP/dT: 88,3±9,1 vs 30,6±10,6 p<0,001; los resultados de G3, G8 y G10 fueron similares). El grupo G6 con 30 min de I no se diferenció del control. Se concluye que, en este modelo experimental, la diabetes inducida por STZ disminuye la sensibilidad del miocardio al daño producido por I-R, independientemente del tiempo de evolución pero no de la duración del período de isquemia.

ENDOCRINOLOGÍA III

200. (419) EFECTO DE LOS ESTROGENOS SOBRE LA ACTIVIDAD Y EXPRESION DE LA OXIDO NITRICO SINTASA (NOS) INDUCIDA POR EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-ALFA (TNF) EN CELULAS ADENOHIPOFISARIAS. JAITA GABRIELA, CANDOLFI Maríanela, CARUSO Carla, PISERA Daniel, SEILICOVICH Adriana.

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Previamente hemos demostrado que el TNF induce la expresión de iNOS en adenohipófisis y que su efecto inhibitorio sobre la secreción de prolactina es mediado por el óxido nítrico. Dado que las acciones de esta citoquina sobre la proliferación y apoptosis de células adenohipofisarias es predominante en proestro y dependiente de los estrógenos, investigamos el efecto del TNF sobre la actividad de NOS (por radioconversión de Arginina-14C) y sobre la expresión de iNOS (por RT-PCR) en células adenohipofisarias provenientes de ratas ciclantes, sacrificadas en proestro o diestro, y ovariectomizadas (OVX), cultivadas en presencia de 17β-estradiol (E). El TNF aumentó la actividad de NOS tanto en células provenientes de ratas en proestro (C 585±58 cpm/well, TNF 752±19, p<0.001) como en diestro (C 327±24, TNF 526±55, p<0.001). La actividad de NOS fue significativamente mayor en las células adenohipofisarias de ratas sacrificadas en proestro (p<0.001). La presencia de E en el medio no modificó el efecto estimulador del TNF sobre la actividad de NOS en células adenohipofisarias de ratas OVX (C 573±11, TNF 734±30, E 539±18, E+TNF 761±30, p<0.001). El TNF aumentó la expresión de iNOS (907 pb) en todas las condiciones estudiadas. La expresión fue mayor en células de ratas en proestro que en células de ratas en diestro. Estos resultados sugieren que las variaciones en la expresión de iNOS podrían estar involucradas en los efectos adenohipofisarios del TNF a lo largo del ciclo estral.

201. (421) COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO Y SU VINCULACION CON EL CRECIMIENTO, PESO ADULTO, PERFIL GLUCOLIPIDICO Y MORFOLOGIA PANCREÁTICA EN MACHOS DE LOS MODELOS MURINOS DE DIABETES ESS Y ESMT. PICENA JUAN CARLOS, MONTENEGRO Silvana M, FIGUEROA Nora S, MARTÍNEZ Stella M, TARRÉS María C.

Facultad de Ciencias Médicas CIUNR, PIAD, UNR.

Las ratas diabéticas eSS y eSMT muestran interacción genotipo-ambiente. Se investigó el comportamiento alimentario relacionándolo con biomasa, perfil metabólico y morfología pancreática. Se midió peso y largo de cola desde 21 a 70 días, comprobándose con el modelo de von Bertalanffy: similar madurez y peso(g) y longitud(cm) asintóticas mayores (p<0.001) en eSMT (media ±SD: 369±313&38±36, 25±8&20±3). Desde los 40 a 54 días se midió biomasa, longitud caudal e ingesta (C:g y C Calórico: kcal). eSMT aumentó más de peso (143±8&110±5, p<0.001) sin diferir la longitud y los consumos (C 27±3&25±2; CC 81±8&77±6). A los 6 meses la ingesta de eSMT fue menor (p>0.001) (24±2&29±1; 74±5&88±4) y mayores el peso total (374±33&298±18) y de las grasas retroperitoneal (15±3&8±3) y gonadal (14±1&4±1). eSMT presentó glucemias basal y tras sobrecarga y colesterolemia (mg/dl) superiores que eSS (G0:158±31&122±33 p<0.05, G120:268±35&205±33 p<0.001, Col:92±15&76±12 p<0.05); los triglicéridos no difirieron (122±16&113±22). La correlación múltiple entre estas variables fue significativa (R=0.6 p<0.05) sólo tomando juntas ambas líneas. El páncreas no mostró diferencias en el peso, cantidad y tamaño insular; los islotes de eSMT presentaron fibrosis. Las disimilitudes entre genotipos podrían atribuirse a la eficiencia metabólica de eSMT, que en la etapa de crecimiento logra mayor incremento de peso con igual consumo y en la adultez mantiene superior biomasa y depone más grasa con menor ingesta calórica.

202. (546) CASCADA DE SEÑALES INDUCIDA POR ANGIOTENSINA II (AII) EN CÉLULAS HIPOFISARIAS. SUÁREZ CECILIA, MLADOVAN Alejandro, VELA Jorge, BALDI Alberto, BECÚ-VILLALOBOS Damasia, DÍAZ-TORGA Graciela.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET

Demostramos anteriormente que AII estimula en hipófisis la fosforilación de las MAPK p42 y p44, estando esta respuesta alterada en la hiperplasia. En este trabajo caracterizamos los componentes de la transducción de señales conducente a la activación de estas MAPKs en la hipófisis normal. Células hipofisarias de rata fueron tratadas en cultivo con distintos estímulos. Luego se determinó por Western-Blot el nivel de activación de las MAPK. AII 10-7 M estimuló la fosforilación de MAPK con un máximo a los 5 min

(155+/-42%). La utilización de la toxina de Pertussis demostró que la proteína G involucrada no es la Gi, sino probablemente la Gq. El U73122 (inhibidor de la PLC) indicó que esta fosfolipasa estaría involucrada en la cascada. El uso del PMA confirmó que la vía de la PKC no sería la principal responsable de la activación de MAPK inducida por AII. Sin embargo, el Ca²⁺ parece ser un componente importante en esta activación, según lo confirma el uso del quelante EGTA y la thapsigargina (depletor de los depósitos intracelulares de Ca²⁺). Por otro lado la herbimicina A (inhibidor de tirosininasas) inhibió parcialmente la respuesta. Finalmente, el PD98059 (inhibidor de MEK1/2) confirmó la activación de las MEK previa a la de las MAPK. Estos resultados indican que la activación de las p42 y p44 en hipófisis estimulada por AII estaría mediada en parte por la vía Ras/Raf activada a su vez por una elevación del Ca²⁺ intracelular inducida por PLC. Con el apoyo de ANPCyT y CONICET.

- 203. (562) MECANISMOS MOLECULARES ASOCIADOS AL SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO.** SANDER VALERIA, REARTE Barbara, ESTEVEZ Alejandra, GONZALEZ Claudio, DI GIROLAMO Guillermo, MOTTA Alicia.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos Facultad de Medicina- Departamento de Farmacología (UBA)

El objetivo de este trabajo fue estudiar algunos de los mecanismos involucrados en el Síndrome de Ovario Poliquístico (PCOS), el que fue inducido en ratones BALB/c hembras con dehidroepiandrosterona (DHEA). Se obtuvieron ovarios luego de 6 (PCOS-6), 10 (PCOS-10) y 13 (PCOS-13) días de tratamiento y se comparó con controles (C) que se inyectaron con vehículo (0.2 ml de aceite). En los diferentes días de tratamiento se estudió: I) morfología con hematosilina-eosina II) índice de peroxidación lipídica (IP) del tejido evaluada por la producción de malondialdehído (MDA) III) prostaglandina E (PGE) IV) progesterona (P4), V) estradiol (E) por RIA VI) expresión de ciclooxigenasa inducida (COXII) por inmunoblot. Resultados: I) progresivamente con los días de tratamiento se vió: mayor proporción de estroma y formación de quistes luteales, disminución de las capas de células tecaales en folículos y una disminución en la densidad de células lúteas, II) el IP aumentó con el grado de poliquistosis, C = 909+132, PCOS-6:1759+150, PCOS-10:1935+120, 1454+98 nmoles MDA/gr ovario, III) PGE: C= 583+85, PCOS-6= 775+98, PCOS-10=1128+70, PCOS-13= 690+79pg/mg IV) P4 aumentó en PCOS-13 V) mientras que E aumentó con el tratamiento VI) la proteína COXII no se detectó en C por inmunoblot, pero se expresó con el tratamiento. Conclusiones: IP, PGE, P4 y E se regulan con el grado de poliquistosis y se correlacionan con cambios irreversibles en el tejido ovárico.

- 204. (711) EFECTO DE NEUROPEPTIDOS SOBRE LA LIBERACIÓN IN VITRO DE ESTRADIOL OVÁRICA EN RATAS EN DIESTRO 1 Y 2.** GARRAZA MARISA HILDA, AGUADO Luis

Demostramos que en diestro 1 y 2 (D1 y D2) Neuropeptido Y (NPY), Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP) y Sustancia P (SP) solos, ó combinados con Noradrenalina (NA), modifican la liberación in vitro de Progesterona y Androstenodiona ováricas. Objetivo: observar el efecto de los neuropeptidos solos ó combinados con NA, sobre la liberación de Estradiol ovárico (E) en ratas en D1 y D2. Se incubaron los hemiovarios en buffer Krebs-Ringer, en baño metabólico con: ácido ascórbico (Asc) 1mM, NA 10-7 M, NPY, VIP y SP (50 ng/ml), y NA más cada neuropeptido. Se dosó E por RIA, a los 30, 60, 120 y 180'. Se realizó test t de Student comparando los basales con Krebs vs NPY, VIP y SP, y los basales con Asc vs NA, y NA vs NA + cada neuropeptido. Significancia p<0.05. Resultados: (medias±SEM ng/mg de ovario) D1: E basal con Krebs: 30'= 2.76±0,2; 60'= 2.89± 0,2; 120'=3.18±0,2; 180'= 3.78±0,4. E basal con Asc: 30'= 2.02±0,16; 60'=2.22±0,18; 120'= 2.47±0,2; 180'= 3.05±0,3. D2: E basal con Krebs: 30'= 2.87±0,3; 60'= 2.93± 0,2; 120'=3.41±0,47; 180'= 4.63±0,64. E basal con Asc: 30'= 2.48±0,28; 60'=3.15±0,22; 120'= 3.91±0,2; 180'= 4.7±0,3. Se vió que en D1, VIP sólo y la combinación de NA + SP, producen aumento de la liberación de E. En D2, la combinación de NA con VIP ó con SP, producen disminución de la liberación del esteroide. Los resultados confirmarían que el E es el esteroide ovárico menos afectado por los factores neurales en ratas adultas.

- 205. (712) CONTROL NEURAL DE ANDROSTENODIONA OVÁRICA DURANTE LA PREÑEZ.** CASAS MARILINA, DELGADO Silvia, SOSA Zulema, RASTRILLA Ana, AGUADO Luis.

Laboratorio de Biología de la Reproducción- Universidad Nacional de San Luis

Estudios previos demuestran que la innervación modula la liberación de andrógenos ováricos. Es sabido además, que las neuronas principales de ganglios simpáticos poseen receptores nicotínicos y muscarínicos. El objetivo fue estudiar el efecto colinérgico sobre el ganglio celiaco respecto a la liberación de androstenodiona (A2) desde el ovario, en el sistema ganglio celiaco-nervio ovárico superior-ovario en la segunda mitad de la preñez (Casais y col. 2001). Los agentes fueron Acetilcolina (Ach), Hexametonio (C6) y Atropina (At) en concentración 10-6M. La A2 se determinó por RIA a los 30, 60, 120 y 180 min de iniciada la estimulación. Se aplicó ANOVA I-Duncan p<0.05. Resultados: (pg/mg ovario±SEM). Día 15, A2 control 30':11.6±2; 60':13.5±2; 120':8.5±1.2; 180':7±1. Los tres agentes disminuyen la liberación de A2 (p<0.01). Día 19, A2 control 30':7±1; 60':6±0.7; 120':6±1.5; 180':7±0.5. Ach y C6, inhiben la liberación (p<0.05), mientras que At la aumenta (p<0.01). Día 20, A2 control 30':4±0.7; 60':4±0.8; 120':5±1; 180':6±0.9. Ach continúa con igual efecto (p<0.05) mientras que C6 y At lo revierten (p<0.05). Día 21, A2 control 30':15±2; 60':16±2; 120':14±2; 180':17±2. Ach y At muestran una disminución de A2 (p<0.05) mientras que C6 sólo manifiesta una tendencia inhibitoria. Los agentes colinérgicos modulan la liberación de A2 en la segunda mitad de la preñez y probablemente su acción sea a nivel ganglionar. Según el día de preñez, los efectos son cambiantes: muscarínicos, nicotínicos ó inespecíficos.

- 206. (736) LA NORADRENALINA EN GANGLIO CELÍACO AFECTA LA LIBERACIÓN DE ESTRADIOL OVARICO EN RATAS PREPUBERTALES Y POLIQUÍSTICAS.** DELGADO SILVIA MARCELA, SOSA Zulema, FORNERIS Myriam, RASTRILLA Ana, AGUADO Luis.

Laboratorio de Biología de la Reproducción-Universidad Nacional de San Luis

El síndrome de ovario poliquístico (PCO) se caracteriza por un hiperandrogenismo ovárico funcional, posiblemente por una deficiencia en la enzima aromataasa (Lara y col.2000). El objetivo fue evaluar el papel de la innervación simpática sobre la liberación de Estradiol (E2) ovárico en ratas prepúberes y PCO. Para tal fin se utilizó un sistema integrado Ganglio Celiaco - Nervio Ovárico Superior-Ovario, con y sin Noradrenalina (NA) 10-6 M en la celda ganglionar. Se utilizaron ratas prepúberes de 30 días de edad (control) y con inyección de valerato de estradiol (VE) 0.1 mg (basal). El E2 se determinó por RIA a los 15, 30, 60 y 120 minutos de iniciada la estimulación. Se aplicó test de Student con una significancia de p<0.05. Resultados: E2 (pg/mg ovario ± SEM) control 15': 70.8±9.8, 30':69.9± 9.9; 60':44.6± 9.3; 120':22.8±4.4, grupo basal 15':3.4± 0.5; 30':3.8± 0.7; 60':3.7± 0.5; 120':2.5± 0.2. La inyección de VE inhibió la liberación de E2. La presencia de NA en el grupo control disminuyó el E2 a los 15' y 30' mientras que en el grupo basal se observó solo efecto a los 30 minutos y en sentido opuesto. Conclusión: el control neurogénico del ovario contribuye a la etiología del PCO que se traduce en una alteración a nivel de la producción de estradiol en forma transitoria. La inhibición de E2 es muy manifiesta en PCO, lo que estaría indicando que un aumento de las terminales nerviosas en el ovario y ganglio celiaco, producidas por valerato de estradiol, contribuiría al hiperandrogenismo.

- 207. (955) EXPRESION DE LA OXIDO NITRICO SINTASA (NOS) Y EFECTO DEL NO SOBRE LA ESTEROIDOGENESIS EN CELULAS DE LEYDIG DE RATAS ADULTAS.** RECHE CECILIA, MONDILLO Carolina, PATRIGNANI Zoraida, ZIZOLA Cynthia, PIGNATARO Omar.

IByME - CONICET, Buenos Aires

Resultados de nuestro laboratorio demostraron que el NO inhibía la esteroidogénesis en células de Leydig MA-10. Además, se de-

terminó la actividad de la NO sintasa (NOS) en células de Leydig. Objetivos: a) Comparar los efectos de distintos liberadores de NO sobre la esteroidogénesis en células de Leydig de rata con los observados previamente en células MA-10. b) Determinar la presencia de la NOS por western-blot en ambos tipos celulares. Métodos: Progesterona (Pg) y testosterona (T) se midieron por RIA. Resultados: Los dadores de NO, DETA y DEA, disminuyeron tanto los niveles basales de T como los estimulados con hCG, 22-R-colesterol y pregnenolona (Inhibición en % respecto a los respectivos controles: 85, 95, 70 y 44, respectivamente), pero sin producir cambios en presencia de dehidroepiandrosterona. La producción basal de T aumentó en presencia de L-NAME, inhibidor de la NOS. También se determinó la existencia de las isoformas NOS I y NOS II en ambos tipos celulares. Conclusiones: a) El NO inhibió la esteroidogénesis en células de Leydig en forma similar a lo descrito en células MA-10 actuando sobre las enzimas dependientes de cit P450 (SCC y 17 α -hidroxilasa/17,20 liasa). b) La expresión de al menos dos de las isoformas de NOS apoya la hipótesis que el NO puede actuar como un regulador autócrino de la síntesis de esteroides testiculares (Subsidios: CONICET, CIC y ANPCYT-PICT 99 05-06381)

- 208. (965) EFECTOS DEL EGF SOBRE LA EXPRESION DE LA PROTEINA REGULADORA DE LA ESTEROIDOGENESIS AGUDA (STAR) EN CELULAS DE LEYDIG MA-10.** PATRIGNANI ZORAIDA, RECHE Cecilia, MONDILLO Carolina, ZIZOLA Cynthia, PIGNATARO Omar.

IByME - CONICET, Buenos Aires

Análogos de AMPc (dbAMP) inducen el aumento en la expresión de proteína STAR, en parte a través de la liberación de ácido araquidónico (AA). Datos publicados por nuestro laboratorio indican que el AA exógeno potencia el efecto de dosis submáximas de dbAMPc sobre la esteroidogénesis y la expresión de StAR. Además, mostramos que el EGF aumenta la producción basal de esteroides y potencia la esteroidogénesis inducida por dbAMPc en una forma similar a lo observado con AA. Objetivo: Evaluar el efecto del EGF sobre la liberación de AA inducida por PLA2 y sobre la expresión de STAR en ausencia o presencia de dbAMPc. Métodos: Se midió progesterona (Pg) por RIA y la expresión de STAR mediante Western Blot. Se utilizó quinacrina (Q) como inhibidor de PLA2. Resultados: La potenciación en la respuesta esteroidogénica observada al combinar EGF+dbAMPc (rango de ng Pg/106 cél: C: 1-4; EGF (5 ng/ml): 5-16; dbAMPc (0,1 mM): 40-120; EGF + dbAMPc: 800-1500) se correlacionó con un aumento sinérgico sobre la expresión de StAR en presencia de los 2 factores. Por otra parte, Q produjo una disminución de la síntesis de Pg generada por EGF (ng Pg/106 cél: C: 4.59 \pm 0,11; EGF: 8,85 \pm 0,63; EGF + Q, 5 μ M: 5,97 \pm 0,9, p<0.01 vs EGF). Conclusión: El EGF, al menos en parte, produciría, a través de AA, la potenciación de la expresión de STAR inducida por dosis submáximas de dbAMPc, determinando así el aumento en la respuesta esteroidogénica (Subsidios: CONICET, CIC y ANPCYT-PICT 99 05-06381)

- 209. (970) IMPACTO DEL ENVEJECIMIENTO EN EL CONTENIDO HIPOFISARIO DE FACTORES DE CRECIMIENTO EN RATAS HEMBRAS.** ACHAVAL RITA, CRISTINA Carolina, SOSA Yolanda, MOLINOLO Alfredo, GOYA Rodolfo, BECÚ-VILLALOBOS Damasia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental -CONICET; INIBIOLP, Fac De Medicina, UNLP.

En ratas hembras seniles es común encontrar un agrandamiento de la hipófisis, con hiperplasia y presencia de microadenomas lactotropos. En este trabajo investigamos el efecto del envejecimiento sobre el contenido hipofisario de la proteína codificada por el gen transformante pituitárico (pttg), que a su vez induce la síntesis del factor de crecimiento fibroblástico (FGF-2); del FGF-2 y de su receptor (FGFR). Ratas jóvenes (3-6 meses), viejas (25 meses) y seniles (29-32 meses) fueron decapitadas y sus hipófisis extraídas. Algunas de las glándulas fueron incluidas en parafina y se obtuvieron cortes de 5m para inmunohistoquímica, otras fueron procesadas para Western blot. El pttg fue visualizado como una banda

principal de 16 Kd y una menos intensa de 31 kD, y su expresión aumentó con la edad (42 + 12 %). FGF-2 fue detectado en dos bandas de 19 y 28 kD, y su concentración aumentó en forma no significativa con la edad (45 + 20 %). El FGFR se detectó como una única banda de 53 kD, sin observarse variaciones entre grupos. En concordancia, por inmunocitoquímica se demostró un aumento del 72.0+ 4.6 % en el número de células positivas para FGF-2 en ratas seniles, y ninguna variación en el FGFR. Estos resultados demuestran un incremento de pttg y FGF-2 en la hipófisis anterior de la rata hembra durante el envejecimiento, cambio que podría estar relacionado con la hiperplasia lactotropa que típicamente ocurre con la edad en estos animales. Con el apoyo de ANPCYT y CONICET.

- 210. (978) LA ESTIMULACION DE LA ESTEROIDOGENESIS POR HISTAMINA EN CELULAS DE LEYDIG OCURRE A TRAVES DE DOS SUBTIPOS DE RECEPTORES: H1 Y H2.** MONDILLO CAROLINA, PATRIGNANI Zoraida, RECHE Cecilia, ZIZOLA Cynthia, PIGNATARO Omar.

IByME-CONICET Bs As

Resultados previos de nuestro laboratorio demostraron la presencia de dos subtipos de receptores de HA (H1R y H2R) en células de Leydig. Por otra parte, HA estimuló la esteroidogénesis y potenció los efectos de la hormona luteinizante (LH) en dichas células. Objetivo: Analizar la posible participación de H1R y/o H2R en el mecanismo de acción de HA, en células MA-10 y Leydig de rata. Métodos: Se utilizaron agonistas específicos de los dos subtipos de receptores: HTMT-dimaleate (HT, agonista H1R), Dimaprit (DIM, agonista H2R). Progesterona (Pg), testosterona (T) y AMPc se determinaron por RIA. Resultados: (en veces respecto del control) Células MA-10: Tanto HT como DIM estimularon la síntesis de Pg en condiciones basales (HT: 1,85 \pm 0,19, p<0.01; DIM: 2,81 \pm 0,16, p<0.001) y en presencia de dosis submáximas de hCG (hCG 1ng/ml: 2,14 \pm 0,24; HT+hCG: 3,31 \pm 0,12, p<0.01 vs hCG; DIM+hCG: 8,18 \pm 1,6, p<0.001 vs hCG), pero sólo DIM produjo un aumento significativo en los niveles de AMPc estimulados por hCG (hCG 10ng/ml: 3,32 \pm 0,04; HT: 3,3 \pm 0,32; DIM: 7,36 \pm 0,68, p<0.001 vs hCG). Resultados similares se obtuvieron en células de Leydig de rata sobre la síntesis de T. En conjunto, los datos obtenidos sugieren que el mecanismo de acción de HA en células de Leydig involucraría la activación de receptores H1R y H2R, siendo el AMPc uno de los segundos mensajeros involucrados en la transducción de la señal vía H2R. (Subsidios: CONICET, CIC y ANPCYT-PICT 99 05-06381)

- 211. (1079) EFECTO DEL HEXACLOROBENCENO SOBRE LA EXPRESIÓN GENÉTICA DE 5'-DEIODINASAS Y UDP-GLUCURONIDACIÓN DE HORMONAS TIROIDEAS.** ALVAREZ LAURA, HERNÁNDEZ Susana, KOLLIKER-FRERS Rodolfo, RANDI Andrea, KLEIMAN Diana.

Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

El hexaclorobenceno (HCB) es un contaminante ambiental inductor de disfunciones endócrinas. Se acumula en tejido adiposo blanco y marrón (TAM) y tiroides. La T3 circulante proviene principalmente de la deiodinación periférica de T4 hepática, y del TAM en hipotiroxinemia. Previamente demostramos que en ratas tratadas con HCB (1000 mg/kg p.c.) por 30 días bajaba la T4 sérica, sin alterar la T3. La actividad de las 5'-deiodinasa I (5'DI) no se modificó en hígado, disminuyó en riñón, y aumentó en tiroides, y la 5'DII disminuyó en TAM. Objetivos: esclarecer el mecanismo molecular por el cual el HCB regula la homeostasis de las hormonas tiroideas en ratas, a nivel de: a) la expresión de los genes de las 5'D, en diferentes tejidos, b) la actividad de la enzima UDPglucuronil transferasa (UDPGT) de T4 y T3. Resultados: 1) el HCB no modificó los niveles de ARNm medidos por northern blot, de la 5'DI de hígado (C:1,3 \pm 0,2; HCB:0,9 \pm 0,2), riñón (C:0,9 \pm 0,2; HCB:0,8 \pm 0,3) y tiroides (C:5,3 \pm 1,6; HCB:5,4 \pm 1,6) en unidades arbitrarias (UA), ni los de 5'DII del TAM (C:7,8 \pm 1,2; HCB:8,2 \pm 2,1 UA. 2) la actividad de la T4 UDPGT aumentó 100% (C:5,5+/-0,6 pmoles/min/mg prot; p<0.05) sin alterar la de UDPGT de T3. Conclusión:

la alteración de las actividades de las 5'D por el HCB no se debería a un cambio en la expresión de las enzimas deiodinantes, sino que podría ocurrir a un nivel posttranscripcional. Los niveles disminuidos de T4 se deberían a un aumento en la actividad de la UDPGT de T4 hepática.

HEMATOLOGÍA III

- 212. (794) DISMINUCIÓN VIRTUAL DE LA PROTEASA QUE CLIVA AL FACTOR VON WILLEBRAND (VWF) LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE DESMOPRESINA (DDAVP).** FARIAS CRISTINA, KEMPFER Ana Catalina, AMARAL María Marta, WOODS Adriana Inés, NADAL Victoria, CARBALLO Gonzalo, MENCHENGIESER Susana S, LAZZARI María Angela.

Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R. Castex". CONICET. Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

El DDAVP estimula la liberación endógena de VWF. La VWF cliva los multímeros grandes del VWF in vitro. Nuestro trabajo tiene como objetivo determinar si durante los incrementos agudos de VWF, como ocurre luego de la infusión de DDAVP, se producen variaciones en la concentración de la VWF. Se seleccionaron pacientes que evidenciaron un incremento significativo de VWF plasmático a los 60min post DDAVP ($X \pm SD$): VWF:Ag pre= $51 \pm 7\%$ y post= $176 \pm 31\%$ y VWF:RCo pre= $53 \pm 12\%$ y post= $142 \pm 22\%$. Se evitó la interferencia del VWF endógeno por sonicación y se activó la VWF con BaCl₂. Las muestras (sonicadas y no) previo agregado de VWF purificado fueron dializadas en una solución de urea. La detección de la VWF sobre el VWF se realiza por enlace al colágeno (VWF:CB). Los resultados del VWF:CB de las muestras pre-DDAVP sin sonicar vs las sonicadas fueron: $73 \pm 11\%$ vs $83 \pm 16\%$ ($n=9$; $p=0,118$) y los de muestras post-DDAVP sin sonicar vs las sonicadas: 59 ± 10 vs 78 ± 18 ($n=9$; $p=0,006$). La sonicación no afecta a la VWF pues no existen diferencias significativas entre las muestras pre-DDAVP sonicadas y no sonicadas. La disminución de la VWF en las muestras post-DDAVP sin sonicar, no indica un consumo "in vivo" de la misma, sino una disminución virtual originada por los altos niveles de VWF plasmático. Concluimos que es necesario sonicar las muestras que presenten un aumento significativo de VWF, siempre y cuando la proteasa no sea estructuralmente lábil frente a la sonicación.

- 213. (880) ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND TIPO 2N. BIOLOGÍA MOLECULAR.** CARBALLO GONZALO AUGUSTO, WOODS Adriana Inés, FARIAS Cristina, KEMPFER Ana Catalina, LAZZARI María Angela.

Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires CONICET

Para el diagnóstico molecular de la enfermedad de von Willebrand tipo 2N es conveniente una selección previa que permita evaluar rápidamente gran número de muestras. Elegimos el Conformational Sensitive Gel Electrophoresis (CSGE) para el análisis de los exones 18, 19 y 20 del gen del factor von Willebrand que codifican dentro del dominio de unión al FVIII. Se estudiaron 17 normales y 10 pacientes. Los resultados se confirmaron por secuenciación y se informaron calculando el número de bandas que ocuparían el espacio inter-bandas. En el exón 18, 6 normales presentarían dos bandas a $1,7 \pm 0,2$ y por secuenciación se comprobó que eran compatibles con los polimorfismos G2365A y T2385C. De 2 pacientes con probable mutación Arg19Trp por enzimas de restricción (ER), sólo 1 presentó el patrón de bandas alterado por CSGE. Posteriormente se comprobó por secuenciación que esto se debía a la presencia de los polimorfismos G2365A y T2385C y no a dicha mutación. En el exón 19 no se observó ninguna alteración por CSGE. En el exón 20 se vio una doble banda a $1,0 \pm 0,3$ en 4 pacientes. Tres de ellos presentaron la mutación Arg91Gln por ER y secuenciación y 1 mostró el polimorfismo G2805A. Aunque el método de CSGE no discrimina entre mutaciones y polimorfismos, demostró ser confiable en la pre-selección de muestras. Es más exacto que el método ER por la inestabilidad que presentan las enzimas, más

económico y simple que el método de secuenciación para ser usado en laboratorios de baja complejidad.

- 214. (887) DETECCIÓN DE FACTOR VON WILLEBRAND EN LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES DE MÉDULA ÓSEA HUMANA.** SAVINO JESSICA, LAZZARI María A, SCHATTNER Mirta, POZNER Roberto G, NEGROTTO Soledad, MAUGERI Norma.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

La expresión de integrinas en células hematopoyéticas explica, en parte, la anidación de las células inmaduras al estroma medular. Previamente hemos demostrado que los PMN circulan con factor von Willebrand (VWF) asociado establemente a su superficie, mientras que Koivunen y col demostraron que los leucocitos tienen la capacidad de enlazar VWF por sus integrinas. En vista de estos antecedentes, nos propusimos determinar si el VWF se halla asociado a la membrana de PMN inmaduros (PMN-i). Se utilizaron PMN-i purificados por Histopaque a partir de muestras de médula ósea obtenidas de pacientes (hematológicamente sanos) sometidos a reemplazo de cadera. La presencia de VWF en la membrana de PMN-i y de sangre periférica de donores sanos se analizó por citometría de flujo con un anticuerpo anti VWF fluoresceinado (clon 4F9) y su correspondiente isotipo (clon 679.1Mc7). Los PMN fueron discriminados por sus características de tamaño y complejidad intracelular. Los resultados se expresaron como la media \pm SEM de unidades arbitrarias de intensidad de fluorescencia máxima de anti VWF de 10.000 eventos. Resultados: control de isotipo ($n=12$) 12 ± 4 , VWF en PMN-i 22 ± 12 ($n=4$, $p=0,386$ respecto al isotipo) y VWF en PMN periféricos 221 ± 28 ($n=8$, $p<0,05$ respecto al isotipo y a los PMN medulares). Los resultados sugieren que el VWF podría enlazarse a la membrana leucocitaria luego de su maduración, probablemente como consecuencia del tránsito transendotelial hacia el torrente sanguíneo.

- 215. (935) HOMOCISTEINEMIA: REEVALUACIÓN DEL VALOR DE CORTE.** QUINTANA IRENE L., CASTAÑÓN Mercedes, LAURICELLA Ana, MURUA Alicia, KORDICH Lucia.

Laboratorio de Hemostasia y Trombosis - Depto. Qca. Biológica - Fac. Cs. Exactas y Naturales - U.B.A Sociedad Argentina de Medicina

Los niveles plasmáticos de homocisteína (pHcy) elevados están asociados con riesgo aterotrombótico. Estos hallazgos han planteado la necesidad de establecer un valor de corte de pHcy, por debajo del cual no se observe dicho riesgo. Clásicamente se considera $15 \mu\text{M}$, aunque aún no existe concordancia a nivel internacional respecto al valor óptimo. Objetivo: Determinar el valor de corte de pHcy asociado al riesgo de trombosis venosa (TV). Se evaluaron 82 pacientes con TV sin otras patologías asociadas y se excluyeron aquellos con factores de riesgo trombotico establecidos (Grupo T; edad (mediana y rango): 39 (25-58) años; F/M: 38/44). Como grupo control se estudiaron 115 individuos sanos (Grupo C; edad: 32 (22-55) años; F/M: 76/39). Los niveles de pHcy se determinaron por ELISA. Los niveles de pHcy (mediana, rango) fueron significativamente mayores en el Grupo T: $14,6$ (6,5-42,0) μM , que en el Grupo C: $12,0$ (5,0-20,0) μM ($p=0,0027$). En ambos grupos los niveles de pHcy de los varones fueron mayores que los de las mujeres. Se calcularon los Odds Ratios (OR) y los Intervalos de Confianza de 95% para distintos valores de corte de pHcy: a) para $19,4 \mu\text{M}$, $\text{OR}=10,5$ (2,7-41,1); b) para $15 \mu\text{M}$, $\text{OR}=2,7$ (1,3-5,7); c) para $12 \mu\text{M}$, $\text{OR}=2,4$ (1,1-5,0) y d) para $10 \mu\text{M}$, $\text{OR}=1,2$ (0,5-3,1). Los OR asociados a varones fueron mayores que los de mujeres. El valor de corte de homocisteinemia que se asocia significativamente al riesgo de TV resultó $12 \mu\text{M}$. Se observó que el sexo es un modificador de efecto.

- 216. (1024) SENSIBILIDAD (S) Y ESPECIFICIDAD (E) DE SONDAS HETEROCROMÁTICAS NO COMERCIALES PARA EL ANÁLISIS CITOGÉNICO EN INTERFASE DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS.** GARGALLO PATRICIA, BELLÍ Carolina, ACEVEDO Susana, LARRIPA Irene.

Depto de Genética, IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

La detección de trisomía 8 (T8), monosomía 7 (M7) y la evaluación de quimerismo en trasplantados de médula ósea (MO) con donantes de diferente sexo es relevante en oncohematología. Objetivo: evaluar S y E de FISH en interfase con sondas procesadas en nuestro laboratorio. De los clones pZ7.5 (#7), pZ8.4 (#8), pDMX1 (#X) y pLAY113.5 (Yqh) (Dr Rocchi, Univ de Bari) el DNA plasmídico fue extraído, marcado y usado como sondas para FISH. Se estudió MO normal (controles=5) y de pacientes con T8 (2), M7 (2) y quimeras XX/XY (2) por citogenética (C). Para definir el punto de corte de la T8 y M7 por FISH se contaron 500 núcleos (1,2,3,4 señales) en cada control resultando 3% (X+3DS) y 11% respectivamente. La E de la sonda #8 fue 96% y 91% para #7. Para el complemento XX fue 97% y para XY 98% con Yqh y #X combinadas. La correlación entre C y FISH fue buena en los 6 casos analizados. MO con T8, M7 (100% por C) y MO XX se diluyeron en MO XY normal para evaluar la S y variabilidad Inter-observador. En todos los casos se comprobó buena correlación entre lecturas de 2 operadores ($r=0.993$). De estos datos se observó que el diagnóstico de T8 por C fue factible hasta la dilución 1/4, FISH incrementó la S de detección hasta 1/32 (8 veces). Para M7 el aumento fue menor (2 veces). Los métodos usados en procesar las sondas son rápidos y económicos. Estos estudios mostraron la buena calidad de las sondas no comerciales siendo aplicables al diagnóstico y seguimiento de neoplasias hematológicas.

217. (1070) DETECCIÓN DE MUTACIONES PUNTUALES DEL EXON-1 DEL ONCOGEN N-RAS EN SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS. BELLÍ CAROLINA, DE BRASI Carlos, ARROSSAGARAY Guillermo, BENGIÓ Raquel, LARRIPA Irene.

Depto de Genética, IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

Los Síndromes Mielodisplásicos (SMD) comprenden un grupo heterogéneo de desórdenes hematológicos con riesgo variable de progresión leucémica (PL). Las mutaciones puntuales del gen N-ras se presentan con una frecuencia de 6-40%, dependiendo de la población analizada y del método utilizado. Los datos publicados son contradictorios en cuanto a la relevancia pronóstica que poseen dichas mutaciones sobre la evolución clínica de los SMD. Objetivo: Evaluar la presencia de mutaciones del exon-1 del gen N-ras en pacientes con SMD y su relación con PL. Se estudiaron 35 (M/F=18/17) pacientes (edad media: 59 años) con SMD primario al diagnóstico, clasificados según FAB (21 AR, 3 AS, 5 AREB, 3 AREBt y 3 LMMC) con una mediana de seguimiento de 33,5 meses. La detección de las mutaciones puntuales de los codones 12 y 13 del oncogén N-ras se realizó aplicando la metodología del Generador de Heteroduplex (HG). Se detectaron 4/35 (11,4%) pacientes (2/21 AR y 2/5 AREB) con mutaciones en el codón 12 (2 GGT>GTT, 1 GGT>GAT y 1 GGT>TGT). La PL durante el período de seguimiento de los pacientes analizados fue 3/4 en los pacientes ras(+), mientras que 9/31 en los pacientes ras(-). La presente serie es la primera estudiada utilizando la metodología del HG y la frecuencia observada se encuentra dentro de lo publicado. Los resultados, aunque preliminares, indicarían que la presencia de mutaciones puntuales del gen N-ras sería un útil marcador molecular para identificar pacientes con riesgo de PL.

218. (1115) ESTRÉS OXIDATIVO EN ANEMIAS FERROPÉNICAS. REPETTO MARISA GABRIELA, AIXALÁ Mónica, FOSSATTI María Sofía, CANALEJO Katia, ABDÓN Leopoldo, LLESUY Susana.

Cátedra de Química General e Inorgánica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Buenos Aires. Academia Nacional de Medicina

Objetivo: Evaluar el estrés oxidativo en pacientes anémicos ferropénicos (AF). Introducción: En las anemias microcíticas hipocrómicas hay aumento de susceptibilidad al daño en la membrana eritrocitaria lo que favorece el acortamiento de la vida eritrocitaria y esto podría deberse a el descenso del contenido de hemoglobina intraglobular (importante sustrato "oxidable"). Material y métodos: Grupo I normal (n=30) y Grupo II con anemia ferropénica (n=33). Hemograma (CELLDYN 1700); G6PDH, SOD, Cat, GPx

(cinético), ceruloplasmina (CR) (IDR). Resultados: Hematíes, Hb 9,23±1,73 g/dL, VCM 68,7±7,8fL, HCM 20,6±3,2 pg/dL, RDW20,1±3,2%, CR 56,3± 2,4 mg/dL, GPx 2,76 ± 0,44 umol/min/mg, SOD 1,77±0,12 U/mg, catalasa 1,39 ±0,09 pmol/mg, GSH 24,2 ± 2,2 umol/mL, G6PDH 16,3 ± 1,6 U/gHb. Conclusiones: 1-EI aumento de G6PDH, SOD y GPx una adaptación al daño oxidativo en los AF generándose una constante formación de metaHb (G6PDH) ante la baja concentración de Hb intracelular, 3-un aumento de la ceruloplasmina podría contribuir en la acción de la SOD, 4-La actividad aumentada al doble de la G6PDH, no así de las otras enzimas antioxidantes nos hace presuponer el principal camino de estrés oxidativo: formación de metaHb, daño membrana, hemólisis, 5-Las relaciones expuestas entre G6PDH y Hb, VCM y ADE implicarían que, el mayor agravamiento de la anemia es paralelo al daño oxidativo

219. (1122) INDUCCIÓN IN VIVO DE INOS EN VASOS SANGUÍNEOS MURINOS POR ACCIÓN DE AGES. ORTALLI ANA LAURA, ZANARO Noemí I, SASSETTI Beatriz.

Análisis Biológicos, Depto de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

La hiperglucemia prolongada puede dar lugar a productos avanzados de glicosilación final (AGEs). Los AGEs inducen la expresión de la óxido nítrico sintetasa (iNOS) en células en cultivo. Nuestros resultados previos sugieren que esta inducción ocurre in vivo en macrófagos. Además observamos que AGE-BSA puede conducir a la formación de lesiones endoteliales irreversibles. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de AGE-BSA en la expresión de iNOS en el tejido vascular in vivo para evaluar los mecanismos que generan la disfunción endotelial que conduce a la microangiopatía diabética. Se utilizaron ratones macho Balb/c. Grupo A (n=5) se inocularon por vía intraperitoneal con 600 microgramos (µg) de AGE-BSA y grupo C (n=5) con 600 µg de albúmina sin tratar (BSA), dos veces por semana durante dos semanas. 72 horas después de la última inoculación se sacrificaron los animales e inmediatamente se procedió a la extracción y homogeneización de los grandes vasos. En los homogenatos se determinó la presencia de iNOS mediante inmunoblot utilizando un anticuerpo específico. También se determinó la presencia de nitritos. Se encontró reactividad positiva para iNOS en los vasos pertenecientes a los animales del grupo A, los controles fueron negativos. El nivel de nitritos en los homogenatos fue de 55 ± 6 µM para el grupo A y 23 ± 8 µM en el grupo B (p<0.05). Concluimos que AGE-BSA es capaz de inducir la expresión de iNOS en el tejido vascular in vivo contribuyendo a la angiopatía.

220. (1136) INTERFERENCIA DEL ALUMINIO CON EL METABOLISMO DEL HIERRO. ESTUDIO DE RECEPTORES INVOLUCRADOS. PEREZ GLADYS, PREGI Nicolás, VITTORI Daniela, GARBOSSA Graciela, NESSE Alcira.

Departamento Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Buenos Aires

El aluminio (Al), que es transportado por transferrina (Tf), interfiere con la diferenciación celular (síntesis de hemoglobina) en células K562 estimuladas con hemina (H). En estas células hemos demostrado que el receptor para Tf (RTf) posee similar afinidad por TfFe y TfAl. La competencia a nivel de membrana provoca alteraciones en la captación de Fe. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto del Al sobre mecanismos que regulan la homeostasis del Fe. La presencia de Al provocó una disminución significativa de la captación de ((59))Fe con respecto a los controles sin Al en el medio (100%): No Inducidas (NI) 68±14%, Inducidas con H (IH) 62±22%, n=7. La remoción de Al del medio permitió que la incorporación de ((59))Fe superara la de los controles cultivados sin Al: NI 111±13%, IH 131±15%, n=7. Estos resultados sugieren la posibilidad de un aumento del número de RTf para compensar la deficiencia en la captación de Fe provocada por Al. Ensayos de citometría de flujo empleando anti-CD71, no mostraron diferencias significativas en el número de RTf1 entre cultivos estimulados en presencia o no de Al. Bajo las mismas condiciones, no se hallaron variaciones en los niveles de ARNm del RTf1 determinados por RT-

PCR. Los resultados muestran que el RTf1 no estaría involucrado en el aumento de la captación de Fe debido a la interferencia por Al. El Al modularía el RTf2, un nuevo receptor para Tf, no regulable por niveles de Fe, el cual se expresa preponderantemente en células K562.

- 221. (1148) RIESGO DE HEMORRAGIAS MAYORES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND TIPO 1.** WOODS ADRIANA INÉS, MESCHENGIESER Susana S, BLANCO Alicia, LÁZZARI María Angela.

Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires CONICET

La enfermedad de von Willebrand (VWD) tipo 1 no es considerada una enfermedad hemorrágica severa. Sin embargo es lábil a los desafíos hemorrágicos como las cirugías. Se intentó detectar un marcador de riesgo de hemorragias mayores en estos pacientes. Se estudiaron 553 pacientes VWD tipo 1 (VWF:RCo 10-49 U/dL) con 978 cirugías, 75% eran mujeres. 74.8% tenían grupo sanguíneo O. Parámetros de pacientes sin sangrado (n=282): VWF:RCo: 39,8U/dL±6,6; VWF:Ag: 48,9U/dL±23,4; FVIII: 50,0U/dL±24,7. Parámetros de pacientes con sangrado menor (n=193): mujeres: 66%; grupo O: 76%; VWF:RCo: 36U/dL±9; VWF:Ag: 47U/dL±21; FVIII: 53U/dL±23. Profilaxis: 16 pacientes, 19% sangraron. Parámetros de pacientes con sangrado mayor (n=78): mujeres: 67%; grupo O: 63%; VWF:RCo: 37U/dL±10; VWF:Ag: 51U/dL±36; FVIII: 49U/dL±27. Profilaxis: 14 pacientes, 7% sangraron. 65 de las hemorragias mayores tuvieron como antecedentes pacientes con 3 o más sitios de sangrado habitual. No encontramos parámetros de laboratorio, sexo o grupo sanguíneo que resulten predictivos de hemorragias mayores quirúrgicas en pacientes con VWD tipo 1. Sin embargo el 83% de los pacientes con hemorragia mayor tiene 3 ó más sitios de sangrado habitual, de allí que resulta indispensable recabar cuidadosamente todos los antecedentes clínicos personales de hemorragia atentos a la mayor probabilidad de este grupo de pacientes de sufrir este evento.

INMUNOLOGÍA V

- 222. (465) REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE ANTÍGENOS SECRETADOS POR DISTINTAS ESPECIES DE ALFA-PROTEOBACTERIAS.** DELPINO MARÍA VICTORIA, *POSADAS Diana, *ZORREGUIETA Angeles, FOSSATI Carlos, BALDI Pablo.

*Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral *Instituto de Investigaciones Bioquímicas "Fundación Luis F. Leloir"*

Brucella pertenece al grupo alfa-proteobacteria junto con *Rhizobium*, *Ochrobactrum*, *Agrobacterium*, *Sinorhizobium* y otros géneros, en muchos de los cuales se han descrito operones codificantes para mecanismos especializados en la transferencia de moléculas al espacio extracelular o a otra célula. Esas moléculas están identificadas en muchos casos, pero no en el caso de *Brucella*. Nos propusimos estudiar si las proteínas presentes en el sobrenadante de cultivo de bacterias relacionadas con *Brucella* son reconocidas por sueros de caninos y humanos brucelosos. Se evaluó por ELISA y Western blot la reactividad de los sueros contra estas proteínas, usando como controles sueros de caninos y humanos sanos. Por ELISA, la reactividad promedio (densidad óptica) de los sueros patológicos (humanos y caninos) frente a antígenos de *O. anthropi* y *S. meliloti* fue significativamente mayor que la de los controles normales. En cambio, las diferencias no fueron significativas frente a los sobrenadantes de las otras bacterias estudiadas (*R. leguminosarum*, *A. tumefaciens*) debido a que varios sueros normales dieron altas reactividades. Por Western blot los sueros de individuos brucelosos reconocieron bandas mayoritarias de 28, 37 y 47 kDa en las muestras de *O. anthropi* y de 42 kDa en las muestras de *S. meliloti*. Estos resultados sugieren que *Brucella* posee proteínas antigénicamente relacionadas con factores secretados por otras bacterias del grupo alfa-proteobacteria.

- 223. (467) LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULAS MONOCÍTICAS SE ASOCIA CON LA SECRECIÓN DE IL-8.** FERNANDEZ CALOTTI PAULA, GAMBERALE Romina, COSTAS Mónica, GEFFNER Jorge, GIORDANO Mirta.

Academia Nacional de Medicina Instituto de Investigación Alfredo Lanari

La fludarabina (FLU) es un análogo de adenosina utilizado en oncohematología por su capacidad para inducir apoptosis de células linfoides. Anteriormente habíamos reportado que la FLU aumenta la secreción de IL-6 y TNF inducida por LPS en monocitos. En este trabajo estudiamos el efecto de la FLU sobre la producción de la quemoquina IL-8. Encontramos que el cultivo de células U937 con concentraciones crecientes de FLU aumenta la secreción de IL-8: Ct: 1,6±0,2; FLU 0,05 µg/ml: 3,0±0,3; FLU 0,1 µg/ml: 4,5±0,2; FLU 0,2 µg/ml: 5,2±0,4 (ng/ml de IL-8 en sobrenadantes de 1,5x10⁶(6)) cel/ml en 48 hs de cultivo, n=5), en forma paralela a la inducción de apoptosis: Ct: 1%, FLU 0,05 µg/ml: 2%; 0,1 µg/ml: 15%; 0,2: 35% (% de células apoptóticas). La producción de IL-8 depende de Erk1/2 ya que se inhibió con U0126, pero es independiente de la activación de NFκB. El efecto exacerbador de la FLU también se observó en monocitos de sangre periférica, pero no en linfocitos B de leucemia linfática crónica que secretan IL-8 constitutivamente: Ct: 0,96; FLU 5 µg/ml: 0,71 (ng/ml de IL-8 en 48 hs de cultivo, n=4); % apoptosis: Ct: 7%, FLU: 54%. Otros agentes pro-apoptóticos como clorambucilo, etopósido, topotecan, ara-C y cladribina indujeron igualmente IL-8 en células U937. En conclusión, demostramos que la inducción de apoptosis en células de estirpe monocítica se asocia con la secreción de IL-8 lo que podría favorecer in vivo el reclutamiento de fagocitos y la remoción de las células apoptóticas.

- 224. (481) IDENTIFICACION DE HOMOLOGOS DE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS HUMANAS (IL-6 Y TNF ALPHA) EN MOLUSCOS DEL GENERO BIOMPHALARIA, HOSPEDADORES DE SCHISTOSOMA.** MANSONI GRASSI LUBIANA, MATOS María, GONZALEZ CAPPÀ Stella

Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina, UBA.

Los mecanismos de defensa contra trematodos de *Biomphalaria* son mediados por hemocitos y factores humorales. Entre éstos se ha descrito una proteína semejante a IL-1 humana, cuyos niveles aumentan en caracoles resistentes a la infección. Nuestro objetivo fue determinar en especies de caracoles susceptibles (*B. glabrata* de Brasil) y resistentes (*B. straminea* de Argentina) expuestos (E) o no (C) a *Schistosoma mansoni* (cepa EC) la existencia de las citoquinas IL-6 y TNF-α. Mediante Western Blot se detectaron ambas citoquinas en todos los casos estudiados observándose una banda similar a la de sus controles (IL-6 y TNF-α humanos) de aproximadamente 20 kDa y 17 kDa respectivamente. Para cuantificarlas se utilizó un ELISA usando AcMo anticitoquinas humanas. Hasta el momento, sólo se cuantificó IL-6. Se trabajó con un pool de 40 caracoles *B. glabrata* para cada tratamiento (C y E) y con 100 caracoles para cada grupo de *B. straminea*. Los valores presentados corresponden al promedio de muestras por duplicado y se expresan en pg: *B. glabrata*: C 40,7±11, E 38,6±3 y *B. straminea*: C 44,3±1, E 63,6±10. Dado el bajo número de réplicas por ensayo, aún no se realizaron análisis estadísticos; sin embargo, se observan mayores niveles de esta citoquina, post exposición, en la especie resistente. Esta es la primera comunicación sobre IL-6 y TNF-α en *Biomphalaria*. Estamos cuantificando IL-6 en tejidos y TNF-α en hemolinfa y tejidos.

- 225. (496) PRODUCCIÓN DE INTERFERÓN GAMMA (IFN) Y FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (FNT) POR CÉLULAS PERIFÉRICAS MONONUCLEARES (CPM) DE TUBERCULOSOS ANTE SONICADO DE M. TUBERCULOSIS Y TRATAMIENTO CON CORTISOL.** MAHUAD CAROLINA, BOZZA Verónica, DLUGOVITZKY* Diana, BAY María I., BOTTASSO Oscar.

*Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas *Cátedra de Microbiología, Fac. Cs. Médicas. Universidad Nacional de Rosario*

Previamente demostramos que el cortisol (CORT) inhibía la linfoproliferación ante sonicado de *M. tuberculosis* (ST) en controles respondedores (Co) y pacientes tuberculosos (TB). Para evaluar la eventual influencia del CORT, y su antagonista la dehidroepiandro-

terona (DHEA), sobre la síntesis de IFN y FNT se cultivaron CPM de 13 Co y 27 enfermos TB (9 leves -Le-, 11 moderados -Mo- y 7 severos -Sev-) (47±15 años, media general ± ds) durante 36 hs o 4 días, estimuladas con ST en presencia, o no, de CORT (10((-6)), 10((-7)) M) y/o DHEA (10((-7)), 10((-8)), 10((-9)) M). Los resultados fueron (mediana, percentilos 25-75), IFN (pg/ml, 4 días) sin hormona: Co 448(188-1433), Le 255(36-814), Mo 188(52-824), Sev 23(13.5-203), Co vs Sev $p < 0.04$; con 10((-6)) M CORT= Co 65(30-75), Le 163(31-271), Mo 91(34-406), Sev 4.7(4.7-4.7); sin hormona vs CORT, $p < 0.05$ para Co y Sev. FNT (pg/ml, 36 hs) sin hormona Co 61(37-252), Le 23(13-211), Mo 27(13-51), Sev 14(9-138); con 10((-6)) M CORT= Co 17(13-28), Le 13(8-122), Mo 18(90-46), Sev 10(9-26); sin hormona vs Cort, $p < 0.05$ para Co. Los cultivos sin hormona y los tratados con DHEA no difirieron, y ésta no modificó el efecto del CORT. La menor producción de IFN en los TB, bien evidente en los Sev, se redujo aún más con CORT; significativamente tanto para los Sev como Co. El conocido hecho de que la TB progresiva presenta mayores niveles circulantes de CORT le otorgaría un significado patogénico a este resultado. El efecto de CORT es menos notorio sobre el FNT.

226. (519) MEJORA DEL INDICE TERAPEUTICO DE LA ANFOTERICINA B FORMULADA EN MICROESFERAS DE ALBUMINA EN INFECCIÓN POR LEISHMANIA. DEA AUXILIADORA, RAMA Sara, SANCHEZ-BRUNETE Jose, TORRADO Juan, ALUNDA Jose, BOLAS Francisco.

Universidad Complutense D.Parasitología, D. Farmacia y Tec.Farmacéutica (F. Farmacia); D.Patología Animal (F.Veterinaria)

Se evaluó la eficacia y el efecto en la respuesta inmune de la máxima dosis de Anfotericina B administrable bajo una nueva formulación en microesferas de albúmina, empleando un modelo de leishmaniosis visceral. Se prepararon 4 lotes de cricetos a los que se les administró 10((7)) de promastigotes de *L. Infantum*, tratándolos los días 69, 71 y 73 pi. -Control de infección. -Anfotericina standard a la máxima dosis, 2 mg/kg. -Anfotericina microencapsulada, 40 mg/Kg. -Microesferas vacías. Se analizó la carga parasitaria, la dinámica de anticuerpos, perfil antigénico, inmuno-complejos renales, CD4+ y linfoproliferación. La formulación reduce la carga parasitaria en un 99.9%, alcanzándose la cura parasitológica en la mitad de los animales, con remisión de los síntomas, regresión de la esplenomegalia y recuperación del peso. Hubo una disminución del nivel de anticuerpos en el lote tratado con la formulación a partir de la semana siguiente al tratamiento respecto al resto, con desaparición de un grupo de proteínas, entre 50 y 55 KDa. Asimismo, se redujo a la mitad el nivel de inmunocomplejos renales frente al control. Solo se detectó proliferación en el lote de la formulación (tanto frente a ConA como al antígeno), aunque con una reducción de un tercio de los niveles de CD4+. La nueva formulación permite aumentar la dosis de administración de Anfotericina B, al reducir su toxicidad, ofreciendo la posibilidad de un uso más seguro del fármaco con dosis totales administradas más altas.

227. (527) EFECTOS DE PRODUCTOS DERIVADOS DE MINTHOS-TACHYS VERTICILLATA SOBRE POBLACIONES LINFOCITARIAS DE NIÑOS ALÉRGICOS CON LESIONES DE HERPES SIMPLEX TIPO 1. MALDONADO ANA MARÍA, CARIDDI Laura Noelia, MILITELLO Marina Rosa.

Area Inmunología. Dep Microbiología e Inmunología. Universidad Nacional de Río Cuarto

M. verticillata, es un subarabusto aromático utilizado en infusiones. Las decocciones, extractos y aceites esenciales tienen efectos antimicrobianos y antiherpéticos. Se investigó la capacidad proliferativa de linfocitos estimulados con los derivados. Se evaluaron además los efectos de decocción de *M. verticillata* sobre *Phytolacca Americana* o Pokeweed (PWM). Se estudió la expansión y proliferación de linfocitos provenientes de 25 pacientes de 2 a 14 años de edad, 15 alérgicos con lesiones de HVS-1 y 10 controles. Las células fueron estimuladas con: a) decocción 250ng/ml, b) aceites esenciales 75mg/ml, c) PWM, d) decocción y PWM, e)

control. Se caracterizaron y cuantificaron por IFD las poblaciones de LT CD8+ con anticuerpos monoclonales anti-CD8 y los LB con anticuerpos anti-gammaglobulina humana. Los leucocitos de los pacientes con infección de HVS-1, en cultivos mostraron niveles linfoproliferativos promedios mas elevados, $p < 0.01$. Las diluciones de decocciones como de aceites mostraron efectos mitogénicos similares a PWM, sobre células de pacientes con infección viral o controles. El agregado simultáneo de decocción + PWM redujo significativamente la proliferación alcanzada por cada uno individualmente, $p < 0.001$ tanto en infectados como controles. Entre las células proliferadas se caracterizaron LT CD8+ y LB. Los derivados de *M. verticillata* tienen propiedades mitogénicas similares a PWM. La decocción presentó propiedades inhibitorias sobre los efectos del mitógeno.

228. (578) FACTORES SECRETADOS POR BRUCELLA ABORTUS MODULAN FUNCIONES DE FAGOCITOS PROFESIONALES. DELPINO VICTORIA, *COMERCI Diego, *SIEIRA Rodrigo, FOSSATI Carlos, BALDI Pablo

*Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA *IIB Universidad de San Martín*

Entre las numerosas estrategias que utilizan las bacterias para la invasión de células blanco y la evasión de los mecanismos de lisis, la secreción de factores de virulencia ocupa un papel central. El operon virB de *Brucella* codifica para un sistema de secreción tipo IV, cuya integridad es esencial para la supervivencia intracelular de la bacteria. Nos propusimos evaluar si *Brucella* secreta por el sistema tipo IV factores capaces de modular las funciones de los fagocitos profesionales. Para ello, células monocíticas humanas THP1 fueron incubadas por 1 hora con los sobrenadantes de cultivo de *Brucella abortus* o de una mutante en el aparato de secreción (virB10 polar) o con medio sin cultivar (control), luego de lo cual se las infectó con *B. suis* 1330. A las 4, 24, 48 y 72 horas post infección, las células fueron lisadas y se plaqueó para determinar el número de colonias. En los sobrenadantes se determinó la presencia de nitritos por el método de Griess y TNFalfa por ELISA. La concentración de nitritos y TNFalfa (24 y 48 hs) fue menor, y el número de unidades formadoras de colonias fue mayor, en las células pretratadas con sobrenadante de *Brucella abortus* que en las tratadas con la mutante virB10 polar o el medio sin cultivar. Esto sugiere fuertemente que el operón VirB de *Brucella* codifica un sistema de secreción tipo IV activo que secreta factores que modulan la supervivencia del patógeno en fagocitos profesionales.

229. (657) LA IL-9 INHIBE LA APOPTOSIS DE LINFOCITOS T INDUCIDA POR M.TUBERCULOSIS SIN MODIFICAR LA EXPRESIÓN DE BCL-2, CD95 O CD95L. FRANCO MARÍA CLARA, FINIASZ Marta, SASIAIN María, ILARREGUI Juan, (2)SAAB María, (2)ALVES Leandro, (2)ABBATE Eduardo, FINK Susana.

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina (2)Servicio de Neumología, Hospital F.J. Muñiz.

Se sabe que el *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) induce apoptosis en diversos tipos celulares. La IL-9 es una citoquina pleiotrópica tipo 2. Se la considera antiapoptótica para linfocitos T (LT), pero sólo fue estudiada en la apoptosis inducida por dexametasona. Nos propusimos analizar el papel de la IL-9 en la regulación de la apoptosis en LT cultivados en presencia de Mtb. Para ello se purificaron células mononucleares de sangre periférica de un total de 10 dadores normales (N) y 8 pacientes con tuberculosis (P). Se cultivaron 7 días en presencia o no de Mtb y/o IL-9 y se estudiaron la viabilidad (microscopía de fluorescencia) y la expresión de Bcl-2, CD95 y CD95L (citometría de flujo)(% gated, media±ES). Tratamientos: Control(C), Mtb(Mt), IL-9(C9), Mtb+IL-9(Mt9). Resultados: %viabilidad (media±ES) N: C=50±4; Mt=42±4; C9=51±5; Mt9=54±4 P: C=50±1; Mt=43±2; C9=50±1; Mt9=52±1. Bcl-2/CD3: N: C=66±4; Mt=66±4; C9=65±3; Mt9=65±3; P: C=54±11; Mt=53±9; C9=57±9; Mt9=56±8. CD95/CD4: N: C=74±6; Mt=81±10; C9=81±5; Mt9=80±7; P: C=100±0.2; Mt=99±0.5; C9=99±0.1; Mt9=98±2. CD95/CD8: N: C=37±8; Mt=38±2; C9=41±2; Mt9=35±2;

P: C=94±1; Mt=87±5; C9=94±1; Mt9=94±2. CD95L/CD4: N: C=7±3; Mt=8±2; C9=6±3; Mt9=5±0.5; P: C=100±0.2; Mt=98±0.3; C9=96±1; Mt9=85±13. CD95L/CD8: no se detectaron. La IL-9 revierte la apoptosis inducida por Mtb, tanto en N como en P. Esta actividad no estaría relacionada con la expresión de moléculas como Bcl-2, CD95 y CD95L, asociadas al proceso de apoptosis por activación.

- 230. (667) IGE-IGG4 ESPECIFICAS EN TRIQUINELOSIS HUMANA AGUDA Y CRONICA.** CALCAGNO MARCELA, FORASTIERO Anali, TEXEIRA Carmen, COSTANTINO Susana, VENTURIELLO Stella.

Cátedra de Inmunología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires Hospital Regional J.D. Perón. Villa Mercedes, San Luis

Teniendo en cuenta el rol de la IgE e IgG4 en la resistencia a las helmintosis, el objetivo de este trabajo fue estudiar estos isotipos específicos y la posible modulación del reconocimiento antigénico para los productos de excreción secreción de larva muscular (PES-LM) en triquinelosis humana aguda y crónica. Se analizaron por ELISA indirecto e inmunoelectrotransferencia (IT) sueros de pacientes (n:21) provenientes de brotes epidémicos obtenidos a 2 meses (fase aguda: FA) y 2 años (fase crónica: FC) post-ingesta, usando anti IgE o anti IgG4 humanas seguidos de un suero anti especie conjugado a peroxidasa o biotina. Resultados: La IgE específica se detectó en el 100% de los sueros, revelando por IT las bandas de 116, 97, 66, 55, 45, 36 y/o 29 kDa. Los pacientes de FC no revelaron la banda de 29 kDa. Por ELISA no hubo diferencia en los niveles de IgE en ambas fases. La IgG4 específica se detectó en el 100% de los sueros, revelando las bandas de 45, 55, 66 y/o 97 kDa, siendo las bandas de PM > 55 kDa reconocidas por un mayor porcentaje de sueros de la FC. Las lecturas de ELISA de sueros de FC fueron superiores a las de los sueros de FA (0,636±0.134 vs 0,369±0.027). Este trabajo demuestra en triquinelosis la presencia simultánea de IgE e IgG4 tanto en la FA como FC. Ambos isotipos reconocen las bandas de 45 y 55 kDa y confirmaron la especificidad de estas bandas para el diagnóstico de triquinelosis. Se observó además una modulación en el reconocimiento antigénico de los PES-LM.

- 231. (765) EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE CD1A, CD1B Y CD1C EN CÉLULAS RECIENTEMENTE AISLADAS DE SANGRE PERIFÉRICA DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR ACTIVA.** ILARREGUI JUAN MARTÍN, FINK Susana, (2)GARCÍA Ana, DE LA BARRERA Silvia, (2)FRÍAS Ana, (2)ABBATE Eduardo, SASIAIN María, FINIASZ Marta.

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina (2)Servicio de Neumología. Hospital Muñiz

Las células presentadoras de antígeno (CPA) pueden presentar antígenos glucolipídicos micobacterianos de forma no tradicional a través de las moléculas CD1 (CD1a, CD1b, CD1c). Cada isoforma tiene acceso a distintos antígenos de la micobacteria en diferentes sitios celulares. Actualmente se considera que la vía de reconocimiento por CD1 es importante para generar una respuesta protectora. Se determinó si el proceso inflamatorio a causa de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* modifica la expresión de CD1a, CD1b y CD1c así como la de CD83 y CD86 en células recientemente aisladas de sangre periférica sin el agregado de citoquinas. Se estudiaron 15 pacientes con tuberculosis pulmonar activa (TB) y 7 controles normales (N). Se obtuvieron células mononucleares por centrifugación sobre Ficoll-Hypaque y se analizó la región de monocitos en un citómetro FACScan. Los resultados se expresan como índice de intensidad de fluorescencia media (IFM) = (IFM experimental-IFM isotipo)/IFM isotipo: CD1a: TB: 0,3±0,1, N: 0,8±0,3; CD1b: TB: 0,7±0,2, N: 0,3±0,1; CD1c: TB: 0,5±0,1, N: 1,1±0,2; CD83: TB: 3,7±0,8, N: 0,7±0,2; CD86: TB: 2,6±0,3, N: 2,7±0,3. Se observó una mayor expresión de CD1b y una menor expresión de CD1a y CD1c en las CPA de los TB con respecto a los N. La distribución de las moléculas CD1 se modificaría como consecuencia de la enfermedad, sugiriendo que los

glucolípidos micobacterianos podrían ser presentados preferentemente en el contexto de moléculas CD1b.

- 232. (779) EXPRESIÓN DE CD11B Y RECEPTORES PARA FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (rFNT) E INTERLEUCINA 8 (rIL-8) EN POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS (PMN) DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR (TB).** FIORENZA GLADYS, FARRONI Miguel Angel, NEUMAN Mónica, BOTTASSO Oscar, DLUGOVITZKY Diana.

Cátedra de Microbiología, Parasitología y Virología. Facultad de Ciencias Médicas. UNR Instituto de Inmunología de la Facultad de Ciencias Médicas, Rosario, Argentina

En trabajos previos se demostró que los pacientes con TB sin tratar presentan un trastorno en el estallido respiratorio (ER) de los PMN. Para ahondar en torno al conocimiento de dicha alteración se investigó la expresión en membrana de marcadores vinculados a la funcionalidad de los PMN: CD11b, TNFR1 y CXCR2. Se estudiaron 7 pacientes TB sin tratar (HIV -) y 8 controles sanos (Co) similares en sexo y edad (edad media general 36 ± 13.5 años, DS). Los PMN fueron cultivados durante 4 y 20 hs, estimulados o no, con *M. tuberculosis* (H37Rv) inactivado. Las mediciones por citometría de flujo, se expresaron en % de células positivas e intensidad de fluorescencia media (IFM). Se presentan los resultados preliminares más salientes (media ± es), PMN 20 hs sin estímulo, CD11b: Co=72.3±12.7 TB=81±6.6, IFM: Co=414±64 TB=374±41; rFNT: Co=11.4±4.2 TB=11.8±2.1, IFM: Co=160±23.9 TB=82.7±21.2 (p=0.04); rIL-8: Co=8.6±2.7 TB= 11.4±3.8, IFM: Co=176.7±47.3 TB=74.3±20.2 (p<0.05); PMN 20 hs estimulados, CD11b: Co=2.2±1.2 TB=1.79±0.63, IFM: Co=301±72 TB=69±11.6 (p<0.002); rFNT: Co=4.5±2.1 TB=4.6±1.3, IFM: Co=107.6±29.3 TB=49±12.1 (p=0.05); rIL-8: Co=7.8±1.1 TB=10.8±6.5, IFM: Co=186.3±64.2 TB=52.4±13.8 (p<0.05). La capacidad oxidativa de los PMN de los pacientes se mantuvo por debajo de la de los Co. El defecto funcional se acompaña de una menor expresión de receptores para mediadores involucrados en la actividad de dichas células.

- 233. (822) ACIDOSIS Y CELULAS DENDRITICAS.** VERMEULEN MONICA, GIORDANO Mirta, GAMBERALE Romina, FERNANDEZ-CALOTTI Paula, SALAMONE Gabriela, TREVANI Analia, GEFFNER Jorge.

IIHema. Academia Nacional de Medicina de de Bs. As.

Hemos demostrado que la actividad endocítica de las células dendríticas (CD) murinas se observa potenciada a valores ácidos de pH extracelular. Asimismo, encontramos que la transferencia de CD pulsadas con antígeno a valores ácidos de pH induce in vivo una respuesta humoral marcadamente superior a la observada para CD pulsadas a pH neutro. Aquí, examinamos si el entorno ácido imponía otras modificaciones a las CD, obtenidas de cultivos de médula ósea murina realizados en presencia de GM-CSF. Las CD fueron cultivadas por 3 hs a diferentes valores de pH, analizándose su fenotipo por citometría de flujo. La expresión de CD11c, la y CD40 se observó incrementada en aquellas CD cultivadas a pH ácido: intensidad media de fluorescencia = 131 ± 23 vs 235 ± 31, 346 ± 61 vs 610 ± 46 y 111 ± 27 vs 298 ± 18, respectivamente, pH 7.3 vs 6.5 (n=7, P < 0.01). Analizamos, por otra parte, la capacidad de las CD pulsadas a pH ácido de presentar péptidos antigénicos a través de clase I. A tal efecto empleamos el hibridoma citotóxico B3Z, que reconoce un péptido antigénico derivado de la ovalbúmina en el contexto H-2kb y analizamos su capacidad de destruir CD pulsadas con OA (50 µg/ml, 3 hs a 37°C) a pH 7.3 y 6.5, mediante un ensayo de liberación de 51Cr: % citotoxicidad (relación eefector:blanco 10:1) = 27 ± 9.8 vs 48 ± 12, respectivamente (P<0.05, n=5). Nuestros resultados sugieren que la acidosis extracelular potencia la actividad de las CD.

- 234. (830) ACIDOSIS Y MACROPINOCITOSIS.** VERMEULEN MONICA, GIORDANO Mirta, TREVANI Analia, FERNANDEZ-CALOTTI Paula, GAMBERALE Romina, SILVINA Raiden, GEFFNER Jorge.

Academia Nacional de Medicina de Bs. As. IIHEMA. Academia Nacional de Medicina de Bs. As.

En una comunicación previa nosotros demostramos que las células dendríticas cultivadas a pH ácido (pH 6.5) mostraban un notable incremento en su capacidad endocítica. En la presente comunicación analizamos si otros tipos celulares mostraban un comportamiento similar. Encontramos que los neutrófilos humanos cultivados a pH 6.5 manifestaron también una notable actividad endocítica: endocitosis de ovalbúmina-FITC (OA) y dextrán-FITC (DEX) (50 ug/ml, 3 hs a 37°C), expresada en intensidades medias de fluorescencia = 27 ± 9 vs 121 ± 37 para OA y 30 ± 7 vs 95 ± 12 para DEX ($p < 0.05$, pH 7.3 vs 6.5, respectivamente, $n=5$). Incrementos relativos similares fueron observados al analizar el comportamiento de linfocitos y monocitos de sangre periférica humana. A fin de analizar el mecanismo subyacente al incremento observado, estudiamos la acción del amiloride (5 μ M) y la citocalasina B (5 ug/ml), dos compuestos que, a través de mecanismos diferentes, han demostrado bloquear el fenómeno de macropinocitosis. Observamos, para ambos compuestos, una marcada supresión en la endocitosis de OA por neutrófilos llevada a cabo a pH 6.5, pero no a pH 7.3: % inhibición = 52 ± 7 y 4 ± 4 , pH 6.5 vs 7.3, respectivamente, $n=5$). Observaciones similares fueron realizadas en monocitos y células dendríticas. Nuestros resultados sugieren que en microambientes ácidos se observa favorecida la captación antigénica por macropinocitosis, mediada por diferentes poblaciones leucocitarias.

235. (869) MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE SUPERFICIE EN FAGOCITOS MONONUCLEARES (FMN) PORCINOS INFECTADOS CON BRUCELLA SUI. ARESTEGUI MIRTA B, GUALTIERI Catalina¹, GIORDANO Ricardo², PERALTA Leticia¹, SCHAROVSKY Graciela³

¹Cátedra de Sueros y Vacunas, Fac. Cs. Veterinarias, U.N.R., Casilda ²CIBIC, ³Inst. Genética Experimental, Fac. Cs. Médicas, Consejo de Investigaciones, U.N.R., Rosario

Las Brucellas spp. han desarrollado estrategias, como la unión a moléculas de superficie (MS), para infectar los FMN y evadir mecanismos bactericidas. Nuestro objetivo fue conocer los cambios en la expresión de MS en FMN de porcinos seronegativos (S-) y seropositivos (S+) al diagnóstico de brucelosis, durante la infección brucélica. Se estudió la expresión de 2A10, SLA II, CD25, CD11a, CD11b y CD18 pre (PRi) y post infección (POi) in vitro con B. suis 1330. Se trabajó con 17 cerdas S+ y 17 S- de un establecimiento infectado con B. suis. Se obtuvieron FMN y se caracterizaron por citometría de flujo. Se usó el marcador mielóide SCW3 para diferenciar las regiones de linfocitos y monocitos según tamaño y complejidad celular y CD3 y CD45RA, para descartar contaminación con linfocitos. Los FMN de S+ (PRi) comparados con S- mostraron un mayor % de céls. (+) para 2A10 ($p < 0.001$), SLAII ($p < 0.01$) y CD11b ($p = 0.01$), mientras que (POi) aumentaron CD11a y CD11b ($p = 0.01$). El % de FMN S- positivos para CD11a y CD25 fue mayor ($p < 0.001$) y para SLAII menor ($p < 0.05$), (PRi) que (POi), mientras que en los S+ fue mayor para 2A10 ($p < 0.001$). Los dos grupos también presentaron diferencias en intensidad de fluorescencia. Los FMN de cerdas S+ y S- presentan expresión de base y modulación diferencial de antígenos de superficie que justificaría, en parte, su comportamiento diferente frente a la infección in vivo, permitiendo la sobrevida de la bacteria en animales S+ y su eliminación temprana en S-.

236. (922) EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL GEN DE UCP-2 EN MACRÓFAGOS MURINOS EN RESPUESTA AL ESTÍMULO CON IL-10 E IL-5. STUMPO RITA, (1) GELMI Lucila, (1) LEONI Juliana, (2) KAUER Manfred, (2) KOLB Hubert.

(1)Cátedra de Inmunología. FFyB. IDEHU-CONICET-UBA. Argentina. (2) DFI, Univ. Duesseldorf, Alemania.

La IL-10 es una citoquina capaz de reducir o bloquear la producción de numerosos mediadores pro-inflamatorios en macrófagos. Sin embargo, se conoce poco acerca de su posible acción

estimuladora sobre este tipo celular. Hemos evaluado la hipótesis del rol de la IL-10, no solo como supresora de la función de los macrófagos, sino también como inductora de la expresión de un conjunto de genes diferentes de los identificados en respuestas pro-inflamatorias como la inducida por IFN γ . Se aplicó hibridación sustractiva por supresión (SSH) a macrófagos murinos en cultivo (J774 A.1), para identificar genes expresados diferencialmente frente a estímulos de tipo "Th1" versus "Th2". Mediante un triple proceso de selección y confirmación, 51/1300 clones fueron identificados por su sobre regulación en respuesta a IL-10. El 57% (29/51) de estos transcritos, también se expresaron en respuesta a IL-5. En este último grupo se encontró inducido el gen de UCP-2, cuyas funciones como regulador del metabolismo y la obesidad son conocidas y cuya sobre expresión modula también la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Nuestros estudios de northern-blot y PCR semicuantitativa demostraron la expresión de este gen en respuesta al estímulo de IL-10 e IL-5, pero no frente al de IFN γ . Se demuestra una asociación entre la expresión del gen de UCP-2 y el balance de mediadores Th1/Th2, teniendo éste un impacto directo en el control metabólico mediante la expresión del mencionado transcripto.

237. (927) EFECTO DE LA GALECTINA 3 Y EL FIBRINOGENO SOBRE LA FUNCIONALIDAD DE LOS NEUTRÓFILOS HUMANOS (PMN). RUBEL CAROLINA, FERNÁNDEZ Gabriela C., GÓMEZ Sonia, BEIGIER-BOMPADRE Macarena, ISTURIZ Martín, RABINOVICH Gabriel, PALERMO Marina.

IIHEMA. Academia Nacional de Medicina. Div. Inmunogenética, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UBA, Buenos Aires

Previamente se demostró que la Galectina3 (Gal3) induce la respuesta oxidativa en neutrófilos humanos (PMN) estimulados por estímulos inflamatorios. A su vez nosotros demostramos que el fibrinógeno soluble (sFbg) activa los PMN aumentando la degranulación de los mismos evidenciada por la expresión del CD66b, receptor de Gal3. En base a estos resultados el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de Gal3 en PMN estimulados con sFbg. Cuando se analizó la degranulación de PMN por citometría de flujo (CF) se observó que la Gal3 (0.4 ug/ml) aumentó la expresión de CD66b (IMF+ES $n=6$ /grupo; control: 76 ± 19 , sFbg: $119 \pm 19^*$, Gal3: $265 \pm 99^*$) obteniéndose la máxima expresión con el agregado de sFbg (6 μ M) luego de la Gal3 (Gal3 + sFbg: $467 \pm 133\#$, sFbg+Gal3: $235 \pm 79\#$). Sin embargo cuando se analizó la apoptosis de los PMN a 18 hs por CF se observó que la Gal3 aumenta la apoptosis a diferencia del sFbg que retrasa (% PMN apoptóticos control: 28 ± 4 ; sFbg: $16 \pm 4^*$ Gal3: $49 \pm 3^*$, $n=5$ /grupo) y que la combinación de Gal3 y sFbg produce un balance de ambas respuestas, siendo indistinto el orden de los tratamientos (Gal3+sFbg: $37 \pm 4\#\dagger$, sFbg+Gal3: $39 \pm 4\#\dagger$). Por otro lado se observó que la Gal3 ejerce sus efectos pro-apoptóticos activando la MAPKinasas p38. Concluimos que la Gal3 per se aumenta la degranulación y la apoptosis de los PMN. Además mientras potencia el efecto del Fbg sobre la degranulación, balancea sus efectos sobre la apoptosis (* $p < 0.05$ vs control, # $p < 0.05$ vs Gal3, † $p < 0.05$ vs sFbg).

238. (947) ESTUDIO DE LA CAPACIDAD INVASIVA EN TEJIDOS ASOCIADOS A LA MUCOSA, PATOGENICIDAD Y RESPUESTA INMUNE DE DOS SEROTIPOS DE YERSINIA ENTEROCOLITICA. ZARELLI VALERIA, DI GENARO María, FAVIER Gabriela, ESCUDERO María, STEFANINI Ana.

Area de Microbiología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis.

Yersinia enterocolitica es una bacteria Gram-negativa enteropatógena que causa enteritis, enterocolitis y linfadenitis mesentérica. La patogenicidad de Y. enterocolitica depende de factores de virulencia codificados en el plásmido de virulencia pYV. Nuestros objetivos fueron comparar la capacidad invasiva en tejidos asociados a la mucosa, la patogenicidad y el perfil de respuesta inmune de los serotipos O:8 y O:9 de Y. enterocolitica. Ratones

de la cepa Rockland fueron infectados por vía intragástrica con *Y. enterocolitica* O:8 cepa 1821 o *Y. enterocolitica* O:9 cepa local; ambas portadoras del pYV. La dosis infectiva fue de 2×10^{10} ufc / ratón. A las 72 horas postinfección (p.i.) se extrajeron en forma aséptica el bazo, los ganglios mesentéricos (GM) y las placas de Peyer (PP). Se realizó el recuento del número de bacterias (ufc) por órgano en agar Mueller Hinton y en agar Mc Conkey-Irgasán. En el suero de los ratones infectados se determinó la respuesta de anticuerpos mediante ELISA. Las ufc detectadas en bazo ($p < 0.0013$) y GM ($p < 2,13.10^{(-5)}$) 72 horas p.i. con *Y. enterocolitica* O:9 fueron significativamente menor al de *Y. enterocolitica* O:8. No se observaron diferencias significativas en el recuento en PP ni en los niveles de IgG1 (Th2), IgG2a (Th1) e IgA sérica inducidos por ambos serotipos en la cepa de ratones ensayada. De éste estudio se concluye que la patogenicidad así como la capacidad invasora es menor en *Y. enterocolitica* O:9 que en *Y. enterocolitica* O:8.

- 239. (1010) ANTICUERPOS IGM ANTI-GM1 PRESENTES EN PLASMA HUMANO NORMAL SON PARTE DE LA RESPUESTA INMUNE A BACTERIAS.** ALANIZ MARÍA, YUDOWSKI Silvia, LOPEZ Pablo, NORES Gustavo.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba Hospital Infantil, Córdoba

En base a estudios de requerimientos estructurales para su unión al antígeno, se ha propuesto que anticuerpos anti-GM1 asociados a desórdenes neurológicos se originan por mutaciones espontáneas de anticuerpos similares que ocurren normalmente (hipótesis "Binding site drift", López y col., *Neurochem. Res.* 2002, 27:687). Anticuerpos IgM anti-GM1 en individuos normales aparecen concomitantemente con otros anticuerpos anti-glicanos (anti-Forsman y anti-grupo sanguíneo A) considerados marcadores de respuesta inmune a lipopolisacáridos bacterianos, indicando un origen similar. La aparición de los anticuerpos es relativamente tardía con respecto a la colonización bacteriana normal, ya que existen individuos negativos para anticuerpos con edades de hasta 1 año. *Escherichia coli* y bacterias intestinales de niños normales fueron cultivadas y sus lipopolisacáridos (LPS) fueron extraídos mediante el método de agua-fenol caliente. Mediante la técnica HPTLC-inmunotinción se observó que plasma de niños con reactividad negativa hacia GM1, los antígenos A y Forsman presentaron reactividad hacia los LPS, mientras que anticuerpos anti-GM1 de adultos normales purificados por columnas de GM1 no reaccionaban con ellos. Estos resultados indican que las bacterias responsables de la producción de anticuerpos anti-GM1 presentes en plasma normal no serían las de flora normal. La infección con *Campylobacter jejuni* ha sido considerada un factor importante en el desarrollo de neuropatías autoinmunes.

- 240. (1031) CANDIDA ALBICANS ESTIMULA LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (ON) POR CÉLULAS DEL GLIOMA C6.** SALIDO RENTERIA BEATRIZ M., CORREA Silvia, SOTOMAYOR Claudia.

Inmunología, Fac. Cs. Qcas., Universidad Nacional de Córdoba

Más de un 50% pacientes fallecidos con candidiasis sistémicas presentan invasión del Sistema Nervioso Central (SNC) por *C. albicans*. En el microambiente neural, los astrocitos constituyen un grupo celular con elevada capacidad de reaccionar frente al trauma o a la injuria tisular. En respuesta a citoquinas proinflamatorias, una isoforma inducible de la ONsintetasa inducible (iNOS) regula la producción de NO por estas células. En este trabajo, nosotros evaluamos la capacidad de *C. albicans* de inducir la producción de ON en células astrogliales, usando el glioma de rata C6. Para ello 4.10^4 C6/well se cultivaron con *C. albicans* a distintas relaciones efector:blanco y a diferentes tiempos (2, 18, 24, 48 y 72 h). Como control se usó la estimulación con LPS. Después de 24h, *C. albicans* indujo la producción de ON ($p < 0,05$). La incubación con concentraciones crecientes de hongo produjo incremento dosis dependiente en la producción de nitritos. Un perfil diferente de respuesta pudo observarse cuando las células C6 se enfrentaron du-

rante 48h a hongos viables (pseudomicelio o levadura) o muertas por calor. La producción más significativa se observó en el co-cultivo con la forma hifal. La filamentización del hongo a las 48h evaluado por la técnica del MTT corroboró estos resultados. Estos hallazgos sugieren que durante la candidiasis de SNC el hongo es capaz de gatillar la producción de NO por células astrogliales.

- 241. (1039) LAS PLAQUETAS PREVIENEN LA APOPTOSIS DE LOS GRANULOCITOS EOSINOFILOS A TRAVES DE LA LIBERACION DE GM-CSF.** RAIDEN SILVINA, SCHEITINI Jorge, SALAMONE Gabriela, TREVANI Analía, VERMEULEN Mónica, GIORDANO Mirta, GEFFNER Jorge.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

En una comunicación previa, nosotros demostramos que las plaquetas (P) ejercían un notable efecto anti-apoptótico sobre los eosinófilos humanos (E). Aquí analizamos la identidad de los mediadores anti-apoptóticos. Los E fueron purificados a través de técnicas convencionales (% pureza > 85%) y los ensayos fueron realizados en medio suplementado con 1% de albúmina humana. La apoptosis fue revelada por microscopía de fluorescencia o mediante el test de anexina V. Encontramos: A) El añadido de anticuerpos neutralizantes dirigidos contra GM-CSF (5 ug/ml), pero no contra IL-3 o TNF-alfa, inhibió significativamente ($P < 0.01$) la prevención de la apoptosis mediada por plaquetas (relación E:P 1:10): % apoptosis revelada por microscopía de fluorescencia: 76 ± 9 , 21 ± 6 y 55 ± 8 , para E cultivados por 48 hs solos, con P y con P + anticuerpos anti-GM-CSF, respectivamente (n=5). B) Estudios realizados por marcación intracelular y citometría de flujo demostraron que las plaquetas contienen GM-CSF (intensidad media de fluorescencia: 23 ± 6 y 51 ± 9 , control de isotipo y anticuerpo anti-GM-CSF, respectivamente (n=5, $P < 0.01$). En cultivos de 18 hs de plaquetas aisladas (5×10^6 /ml) encontramos que las mismas liberan GM-CSF, en concentraciones capaces de prevenir la apoptosis de los eosinófilos: 29 ± 7 pg/ml (n=4). Nuestros resultados sugieren que las plaquetas podrían afectar el curso de respuestas alérgicas merced a su capacidad de incrementar la sobrevivencia del eosinófilo vía GM-CSF.

- 242. (1047) INTERACCIÓN ENTRE RECEPTORES DE TIPO TOLL DE CÉLULAS DENDRÍTICAS Y VIRUS DEL TUMOR MAMARIO MURINO.** BURZYN DALIA, BERGUER Paula, LOMBARDI Gabriela, ROSS Susan, NEPOMNASCHY Irene, PIAZZON Isabel.

ILEX-CONICET. Instituto de Investigaciones Hematológicas. Academia Nacional de Medicina Department of Microbiology/ Cancer Center. University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

Los receptores de tipo Toll (TLRs) están implicados en el reconocimiento de moléculas de origen microbiano por el sistema inmune innato. Recientemente se ha demostrado la interacción entre el TLR4 y la proteína de la envoltura gp52 del virus del tumor mamario murino (MMTV). Los TLRs se expresan en células del sistema inmune, entre ellas las células dendríticas (CDs). Se estudió el efecto de la interacción entre el MMTV y las CDs y el rol del TLR4 en este proceso. Se comparó la producción de citoquinas por ELISA en CDs derivadas de médula ósea de ratones BALB/c incubadas 18 hs con PBS (a) o MMTV (b). Los datos se expresan como media \pm SD (n=3) en pg/ml: TNFalfa (a): 22 ± 1 ; (b): 6373 ± 631 ; $p < 0.001$; IL-6 (a): 31 ± 2 ; (b): 24130 ± 792 ; $p < 0.001$. La preincubación del virus con un anticuerpo anti-MMTV disminuyó significativamente la producción de citoquinas. Se estudió luego el papel del TLR4 en la estimulación de las CDs por MMTV. Se descartó la contaminación de la preparación viral con LPS hirviéndola durante 1 h. La tolerización de CDs con LPS (ligando del TLR4) inhibió el efecto del MMTV: TNFalfa: tolerizadas: 84 ± 9 ; no tolerizadas: 8749 ± 369 ; $p < 0.001$. Se comparó el efecto del MMTV sobre CDs obtenidas de ratones C3H/HeJ (mutantes para TLR4) (a) o ratones normales (C3H/HeN) (b): TNFalfa (a): 40 ± 4 ; (b): 18348 ± 1738 ; $p < 0.001$; IL-6 (a): 191 ± 9 ; (b): 20502 ± 753 ; $p < 0.001$. Los resultados sugieren que el MMTV es capaz de activar a las CDs y que el TLR4 estaría involucrado en este proceso.

- 243. (1054) PREVENCIÓN DE LA APOPTOSIS DE NEUTRÓFILOS Y MONOCITOS HUMANOS POR CITOCROMO C EXTRACELULAR.** SALAMONE GABRIELA, SCHETTINI Jorge, VERMEULEN Mónica, GAMBERALE Romina, FERNÁNDEZ-CALOTTI Paula, GIORDANO Mirta, GEFFNER Jorge.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

La liberación de citocromo c (CC) desde mitocondria al citosol, constituye un evento clave en la progresión del fenómeno apoptótico en células eucariotas. Considerando que en diferentes procesos de naturaleza infecciosa o tumoral se ha descrito la liberación de CC al medio extracelular, analizamos si la presencia de CC en el medio de cultivo, afectaba la sobrevida de neutrófilos y monocitos humanos. Como fuente de CC, empleamos CC bovino (97% de homología con el humano) y la apoptosis fue evaluada en poblaciones aisladas de neutrófilos y monocitos por microscopía de fluorescencia. Observamos que el CC (100 ng/ml) previno la apoptosis de neutrófilos cultivados por 36 hs: % apoptosis = 74 ± 11 y 33 ± 7 , controles vs CC ($n=5$, $P < 0.01$). Esta protección se encontró asociada a un incremento del 278 ± 66 % en la producción de IL-8, respecto de la producción basal ($n = 5$, $P < 0.01$ basal vs CC). En monocitos en cultivo encontramos también un marcado efecto anti-apoptótico: % apoptosis a los 10 días de cultivo = 84 ± 16 y 13 ± 9 , controles vs CC (100 ng/ml), $n=4$, $P < 0.01$). Los resultados presentados muestran que, en contraste con el papel descrito para el CC intracelular, la presencia de CC extracelular se asocia a la inducción de una notoria actividad anti-apoptótica ejercida sobre neutrófilos y monocitos. Los mecanismos subyacentes a esta actividad no han sido aún analizados.

- 244. (1065) EL VIRUS HERPES SIMPLEX TIPO 1 INDUCE LA EXPRESIÓN DE GALECTINA-1 EN CÉLULAS INFECTADAS: IMPLICANCIAS EN LA APOPTOSIS DE LINFOCITOS T.** RUBINSTEIN NATALIA, SANJUAN Norberto, TOSCANO Marta, RABINOVICH Gabriel.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas "José de San Martín" Facultad de Medicina, UBA; Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA

El virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) emplea múltiples estrategias para evadir la respuesta inmune del huésped, siendo la inducción de apoptosis sobre linfocitos T CD8(+) uno de los principales mecanismos. Sin embargo, sus mediadores moleculares aún no han sido determinados. Galectina-1 (Gal-1) es capaz de suprimir la respuesta linfoproliferativa a través de la inducción de apoptosis de linfocitos T activados, mientras que Galectina-3 (Gal-3) ha sido descrita como un factor anti-apoptótico. El objetivo de este trabajo fue investigar la regulación de la expresión de Gal-1 y Gal-3 y su implicancia en la inducción de apoptosis de linfocitos T luego de la infección con HSV-1. Infectamos células Vero con HSV-1 (2 hs), retiramos el inóculo y agregamos medio fresco (24 hs). A través de inmunofluorescencia indirecta y ensayos de Western blot observamos un aumento significativo de Gal-1 en células infectadas comparado con células no infectadas. No detectamos diferencias en la expresión de Gal-3. Medios condicionados generados por células infectadas indujeron un 51% de apoptosis en células mononucleares al ser evaluado mediante ensayos de hipodiploidía (versus 20% en no infectadas). Este efecto fue inhibido significativamente al bloquear la acción de Gal-1 con lactosa (19% de apoptosis). Este estudio documenta por primera vez la modulación recíproca de Gal-1 y Gal-3 luego de una infección viral aguda, sugiriendo una nueva estrategia del HSV para evadir la respuesta inmune antiviral.

- 245. (1087) LA ACTIVACIÓN DE NF-KB ES UN EVENTO FUNDAMENTAL PARA LA EXPRESIÓN REGULADA DE GALECTINA-1 EN LINFOCITOS T ACTIVADOS: IMPLICANCIAS EN LA HOMEOSTASIS DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA.** TOSCANO MARTA*, FUERTES Mercedes*, MOLINERO Luciana, RUBINSTEIN Natalia, FAINBOIM Leonardo, ZWIRNER Norberto#, RABINOVICH Gabriel#.

*Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de Clínicas "José de San Martín", Facultad de Medicina, UBA *,# Contribuyeron igualmente a este trabajo*

Galectina-1 (Gal-1) pertenece a una familia de proteínas de unión a carbohidratos con poderosa actividad inmunoregulatoria. Recientemente determinamos que Gal-1 se expresa en linfocitos T activados, modulando en forma parácrina o autócrina la respuesta antígeno-específica y alogénica. Sin embargo, se desconocen aún los mecanismos intracelulares involucrados en la expresión regulada de esta proteína. Considerando que el factor de transcripción NF-kB juega un rol crítico durante la activación linfocitaria, nuestro objetivo fue investigar la participación de NF-kB en la regulación de la síntesis de Gal-1. Utilizando sulfasalazina, un inhibidor específico de este factor de transcripción, observamos por Western Blot una disminución dosis-dependiente de la expresión de Gal-1 en células mononucleares de sangre periférica (CMSPs) activadas con AcMo anti-CD3 o AcMo anti-CD28/PMA. Sulfasalazina inhibió la degradación de IκBα y la translocación de RelA al núcleo. Mediante análisis de secuencia, hallamos 55 posibles sitios consenso de unión de NF-kB en el gen de Gal-1, identificándose un sitio con 100% de homología en el primer intrón (posición +601). Transfecciones transientes de células HEK293 con RelA mostraron que NF-kB es capaz de inducir un marcado incremento en la expresión de Gal-1. De acuerdo a las evidencias expuestas, la regulación de la síntesis de Gal-1 mediada por NF-kB podría contribuir a la homeostasis de la respuesta inflamatoria en condiciones fisiológicas y patológicas.

INMUNOLOGÍA VI

- 246. (762) INFLUENCIA DE SAP, PROTEÍNA REGULADORA DE SLAM (MOLÉCULA SEÑALADORA DE ACTIVACIÓN CELULAR), EN LA REPLICACIÓN DE HIV IN VITRO.** BELMONTE LILIANA ELIZABETH, BARÉ Patricia, PARODI Cecilia, RUIBAL-ARES Beatriz, DE BRACCO María.

IIHema. Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

La molécula señaladora de activación linfocitaria (SLAM) es regulada por una proteína asociada a SLAM (SAP). Recientemente se sugirió que la vía de señalización por SLAM está involucrada en la replicación del HIV. Por lo tanto estudiamos la influencia de SAP en la replicación del HIV in vitro. Utilizamos células mononucleares periféricas (CMP) de controles normales (C) ($n=3$) y de dos pacientes con síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X (XLP), homocigotas para la mutación Xq25. Esta rara mutación altera la expresión y funcionalidad de SAP, perdiendo su actividad reguladora de SLAM. Se infectaron CMP-XLP y CMP-C con virus linfotrópicos (X4) o macrófagotrópicos (R5) (cultivo no estimulado, Ruibal et al, Cell Immunol 2001). Este ensayo se repitió 3 veces en 4 meses. A tiempos cortos (<21d) la infección con X4 dió igual rendimiento con CMP-XLP y C, pero luego de 46d fue: CMP-XLP/X4: 16709 ± 1991 pg/ml; CMP-C/X4: 163 ± 81 pg/ml. Con virus R5, el rendimiento máximo (21d) fue menor: CMP-XLP/R5: 1132 ± 223 pg/ml; CMP-C/HIV R5: 5669 ± 1386 pg/ml. En la fase final de los cultivos predominaban los macrófagos activados organizados en cúmulos celulares, siendo éstas las células blanco de la infección por HIV en éste sistema. Se sugiere que la activación no controlada de SLAM, por ausencia de SAP, favorece la replicación de HIV X4, mientras que inhibe la replicación de HIV R5. Esto último podría estar vinculado a los cambios en la concentración de citoquinas inflamatorias descritos en XLP.

- 247. (775) EL SISTEMA COMPLEMENTO REGULA EL EFECTO DE LOS COMPLEJOS INMUNES (CI) SOBRE LA EXPRESIÓN DE LAS MOLÉCULAS DE HISTOCOMPATIBILIDAD DE CLASE II (MHC-II) EN MONOCITOS.** BARRIONUEVO PAULA, BEIGIER BOMPADRE Macarena, FERNÁNDEZ Gabriela, GÓMEZ Sonia, PALERMO Marina, ISTURIZ Martín.

División Inmunología, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina

La regulación de las MHC-II es un evento crucial en la respuesta inmune. Anteriormente demostramos que los CI ovaalbúmina (OA)-IgG anti-OA inhiben la expresión de las MHC-II en monocitos humanos y en macrófagos utilizando un modelo murino de foco inflamatorio. En este trabajo analizamos el efecto del complemento sobre la inhibición inducida por CI de las MHC-II y el efecto sistémico de los CI sobre las MHC-II en ratones BALB/C. Los resultados obtenidos muestran que el suero humano normal (SHN) pero no el SHN inactivado por calor (SHNØ), fue capaz de revertir el efecto de los CI sobre la expresión de las MHC-II en monocitos humanos. La expresión de las MHC-II fue evaluada por citometría de flujo y los resultados expresados como % MIF del control \pm SEM son: a) IC:41 \pm 9; b) IC+SHN:103 \pm 9; c) IC+SHNØ: 46 \pm 11; a) y c) vs control $p < 0,01$. Los CI formados en presencia de SHNØ pero no de SHN fueron capaces de reducir la expresión de las MHC-II. Por otra parte, los CI inyectados intravenosamente no fueron capaces de reducir la expresión de las MHC-II en monocitos de sangre periférica de ratón. Estos resultados nos permiten concluir que: 1) La activación del sistema complemento, probablemente por solubilización de CI o inhibición de la precipitación inmune, podría ser un paso crucial en la regulación del efecto de los CI sobre las MHC-II; 2) Los CI inyectados intravenosamente podrían ser solubilizados por la activación del sistema complemento previniendo su efecto en la expresión MHC-II.

- 248. (792) GALECTINA-1 MODULA LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS ASOCIADAS A MECANISMOS EFECTORES E INMUNORREGULATORIOS EN MONOCITOS HUMANOS.** BARRIONUEVO PAULA, BEIGIER BOMPADRE Macarena, RUBEL Carolina, PALERMO Marina, ISTURIZ Martín, (2)RABINOVICH Gabriel.

División Inmunología, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina. (2) Laboratorio de Inmunogenética e Histocompatibilidad, Hospital de Clínicas "José de San Martín".

Galectina-1 (Gal-1), es una proteína que al unirse a gliconjugados específicos modula la acción de diferentes mecanismos inmunorregulatorios. Sin embargo, no se conoce su acción sobre los monocitos humanos. En este trabajo investigamos el efecto de Gal-1 en la regulación de moléculas de relevancia inmunológica como el receptor para la porción Fc de IgG (FcγRI), las moléculas de histocompatibilidad de clase II (MHC-II) y CD14, en monocitos humanos purificados. La expresión de estas moléculas se evaluó por citometría de flujo y se usaron 3 concentraciones de Gal-1 (0,4, 4 y 40 mg/ml). Los resultados muestran que Gal-1 0,4 mg/ml induce la sobreexpresión del FcγRI mientras que Gal-1 4 mg/ml inhibe la expresión del FcγRI inducida por IFN-γ. Los resultados expresados como % MIF del control \pm SEM son: a) Gal-1 0,4 mg/ml:187 \pm 46; b) Gal-1 4 mg/ml:87 \pm 10; c) IFN-γ:427 \pm 48; d) Gal-1 4 mg/ml + IFN-γ:273 \pm 35; a) vs control $p < 0,05$; c) vs d) $p < 0,05$. Por otra parte, Gal-1 inhibe la expresión basal e inducida por IFN-γ de las MHC-II en forma dosis dependiente: a) Gal-1 4 mg/ml:82 \pm 3; b) Gal-1 40 mg/ml:73 \pm 4; c) IFN-γ:255 \pm 27; d) Gal-1 4 mg/ml \pm IFN-γ:194 \pm 28; e) Gal-1 40 mg/ml \pm IFN-γ:163 \pm 19; a) y b) vs control $p < 0,05$; d) y e) vs c) $p < 0,05$. Gal-1 no modifica la expresión de CD14. Estos resultados nos permiten concluir que en monocitos humanos Gal-1 puede generar efectos opuestos pro y anti-inflamatorios en baja concentración, mientras que a alta concentración sólo actuaría como anti-inflamatorio.

- 249. (1155) INTERACCIÓN DEL RECEPTOR PARA ANTÍGENOS Vβ5.2 DE LINFOCITOS T HUMANOS (TCR) Y EL SUPERANTÍGENO (SAG) DE S. PYOGENES SSA.** DE MARZI MAURICIO, FERNÁNDEZ Marisa, RAGAZZON Patricia, MALCHIODI Emilio. *Cátedra de Inmunología-IDEHU, FFyB, CONICET-UBA.*

Los SAGs bacterianos son toxinas producidas entre otros por *S. aureus* y *S. pyogenes* que interaccionan con la cadena β del TCR y la alfa del CMH II produciendo, en forma no convencional, la activación de hasta un 20% de los LT que pueden llevar a un shock generalizado. Se propuso que el SAG de *S. pyogenes* SSA estimularía a los LT que tienen TCRs con cadenas variables (V) β5.2 y 1, entre otras. Nosotros clonamos y expresamos estas mo-

léculas en sistemas procariontes obteniendo cantidades apreciables en periplasma (SSA), o en cuerpos de inclusión y replegadas (Vβ5.2 y Vβ1) y analizamos la relación entre la afinidad y la actividad biológica propuesta. La afinidad del SSA por Vβ5.2 y Vβ1 se determinó por resonancia plasmática de superficie en tiempo real, utilizando un biosensor IASys. Inmovilizando los TCRs y pasando concentraciones crecientes de SSA, la afinidad determinada para Vβ5.2 fue llamativamente baja (KD=153 μM). Por el contrario, al inmovilizar el SSA salvaje (95% como dímero) o un mutante Cys26Ser (sólo monómero) y pasar concentraciones crecientes de TCR, se obtuvieron afinidades por Vβ5.2 similares para ambos (KD=7 μM) y comparables con las que presentan otros sistemas SAG-TCR. No pudimos detectar unión apreciable con Vβ1. La baja afinidad del SAG salvaje al inmovilizar el TCR se debería a que el dímero no sería biológicamente activo ya que la KD recalculada, considerando el porcentaje de monómero en la mezcla, sería similar a las obtenidas con los SAGs inmovilizados.

- 250. (1167) ESTUDIO DE LOS MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DE SEÑALES A TRAVÉS DE LA MOLÉCULA CO-ESTIMULATORIA ACTIVADORA DE SEÑALES (SLAM) EN LA INFECCIÓN POR MYCOBACTERIUM LEPRAE.** QUIROGA MARÍA, MARTINEZ Gustavo, PASQUINELLI Virginia, OLIVARES Liliana, VALDEZ Raul, FAINBOIM Leonardo, GARCÍA Verónica.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas José de San Martín Depto de Microbiología, F. de Medicina, UBA. Dermatología, Htal. Muñiz. Dermatología, Htal de Clínicas

SLAM, molécula linfocitaria activadora de señales, es inductor de IFNγ. La lepra es una enfermedad dinámica con subpoblaciones T reactivas a *Mycobacterium leprae* que controlan el espectro clínico/inmunológico. Investigamos la participación de vías críticas en la inducción de IFNγ, como JAK-Stat y NFκB, en la transducción de señales vía SLAM en lepra. La estimulación celular con *M. leprae* indujo activación de Stat1 en dadores normales y en pacientes tuberculoides (BT -productores de IFNγ- que restringen a la bacteria), pero no en pacientes lepromatosos (LL -no productores de IFNγ- con infección diseminada). Los niveles de Stat1 fosforilada resultaron marcadamente inhibidos por efecto de anti-IFNγ, sugiriendo la participación del IFNγ inducido contra *M. leprae* en la activación de Stat1. La señalización vía SLAM indujo fosforilación de Stat1 tanto en pacientes BT como LL, sugiriendo la participación de esta vía en el proceso. La translocación al núcleo de NFκB es regulada por IκB, degradado luego de activación. La estimulación antigénica o vía SLAM disminuyó IκB sólo en pacientes BT, mientras que la estimulación con antígeno + anti-SLAM disminuyó IκB tanto en pacientes BT como LL, sugiriendo que la activación de NFκB en pacientes LL requiere estimulación antigénica y coestimulación vía SLAM. Nuestros datos señalan nuevos aspectos en la señalización vía SLAM que participarían en la producción de IFNγ, citoquina requerida en la inmunidad contra patógenos intracelulares.

NEUROCIENCIAS III

- 251. (486) EXPRESIÓN DE RECEPTORES PARA GLUCO Y MINERALOCORTICOIDES EN EL SNC DE RATAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS (SHR) Y CONTROLES WISTAR/KYOTO.** PIETRANERA LUCIANA, SARAVIA Flavia, LIMA Analia, DE NICOLA Alejandro.

Instituto de Biología y Medicina Experimental-Fac. Medicina. UBA

Los receptores para hormonas esteroideas en el SNC están intimamente ligados a la génesis de la hipertensión arterial. Nuestro objetivo fue mapear los receptores para glucocorticoides (GR) y mineralocorticoides (MR) en áreas cerebrales asociadas a la regulación autonómica, cardiovascular y al balance hidrosalino en ratas SHR y controles Wistar/Kyoto (WKY) de 14 semanas de vida (n= 5 animales por grupo). En este período las SHR estaban francamente hipertensas (SHR: 190 \pm 5; WKY: 130 \pm 5 mm de Hg). Se

realizó inmunocitoquímica empleando un anticuerpo policlonal anti-MR y monoclonal anti-GR con posterior cuantificación por análisis computarizado de imágenes. Ambos grupos no difirieron en cuanto al área inmunoreactiva ni la intensidad de marcado de MR y GR en el órgano vascular de la lamina terminalis, núcleo mediano preóptico y área CA1 del hipocampo. MR no se expresó en el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN) de SHR o WKY. En cambio, las ratas SHR mostraron mayor número de células inmunoreactivas para GR en PVN que los controles (WKY: 1227.69 ± 75.36 , SHR: 2206.08 ± 38.58 cel/mm²; $p < 0.0001$). Cambios similares de GR se hallaron en el PVN de ratas tratadas con DOCA estudiadas en el periodo pre-hipertensivo. Considerando que las células parvocelulares del PVN expresan neuropeptidos vasoactivos y sus receptores, sugerimos que alteraciones de GR modificarían respuestas autonómicas y cardiovasculares, contribuyendo al desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial.

- 252. (566) EFECTOS DE LA INJURIA Y DEL TRATAMIENTO CON PROGESTERONA (PROG) SOBRE UN NUEVO RECEPTOR DE MEMBRANA PARA PROG EN LA MÉDULA ESPINAL (ME) DE RATA.** LABOMBARDA FLORENCIA, GONZALEZ Susana, GUENNOUN Rachida, SCHUMACHER Michael, DE NICOLA Alejandro.

Instituto de biología y Medicina Experimental INSERM U488 Hospital de Bicetre, Paris, Francia.

La PROG posee acción neuroprotectora en la ME lesionada. Trabajos previos detectaron por inmunohistoquímica y RT-PCR el receptor de PROG (PR) en la ME. En este trabajo analizamos como mecanismo alternativo de acción de la PROG al receptor de membrana 25Dx. Utilizando RT-PCR y primers específicos, se describe por primera vez el receptor 25 Dx en la ME y su regulación. Se cuantificó la densidad óptica de las bandas de los productos de amplificación corridos en un gel de agarosa y teñidos con Br ET. Los niveles relativos de expresión se determinaron realizando el cociente entre las densidades ópticas de las bandas del 25 Dx y del estándar ARNr 28S. La expresión del ARNm del 25 Dx en la ME fue del 25% con respecto al hipotálamo (control positivo) (0.38 ± 0.024 vs 1.53 ± 0.06 ; $p < 0.001$). Después de la injuria de la ME por transección torácica completa no se observaron cambios en la expresión del ARNm del 25 Dx (0.38 ± 0.024 vs 0.45 ± 0.051 ; ns), mientras que el tratamiento con PROG aumentó la expresión del mensajero post-lesión (0.45 ± 0.051 vs. 0.71 ± 0.086 ; $p < 0.001$). El estudio inmunohistoquímico demostró la presencia del 25Dx en la membrana celular de neuronas de zonas sensoriales y canal central de la ME. Estos resultados sugieren que la PROG podría mediar en parte sus acciones neuroprotectoras en la ME a través del receptor de membrana 25Dx además de emplear el PR clásico o inhibir la peroxidación lipídica de las membranas.

- 253. (618) INFLUENCIA DE PROGESTERONA (P) EN LA UNIÓN A RECEPTORES PARA BENZODIAZEPINAS EN LA MÉDULA ESPINAL LUMBAR (MEL) DE RATAS MACHO.** BAYONA JULIO C., DORFMAN Verónica, VEGA Cristina, COIRINI Héctor.

Laboratorio de Neurobiología - Instituto de Biología y Medicina Experimental Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina - UBA

Las hormonas esteroideas regulan ciertos mecanismos cerebrales mediante su interacción con el sistema GABAérgico. En el presente trabajo estudiamos el efecto de P, sobre la densidad de los receptores para benzodiazepinas (RBz) en la MEL de animales intactos o con castración (GDX; 15d) y adrenalectomía (ADX; 5d). Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley de 45-60 días de edad (n=5/grupo): Control (C), Control Tratado (CT), GDX-ADX (GA) y GDX-ADX Tratado (GAT). Los tratamientos iniciados en el día de ADX consistieron en inyecciones diarias subcutáneas de: i) P 4mg/kg, ii) trilostano 40mg/kg (Tri, inhibidor competitivo de la D5/D4 isomerasa) iii) vehículo. Los niveles de RBz fueron determinados por autorradiografía cuantitativa, en Lámina II-III del asta dorsal, usando [3H]-Flunitrazepam (10nM) como ligando. Ambos tratamientos produjeron aumentos significativos en los niveles de RBz. En animales GAT se observó un efecto mayor (P:66% y Tri:45%, res-

pecto GA; $p < 0.001$) que en animales intactos (CT P:18% $p < 0.01$ y Tri:4% n.s. vs. C). Los niveles plasmáticos de P en ratas CT (Tri) resultaron 4 veces superiores a los de C ($p < 0.001$). Los presentes resultados indican que: a) P produce una acción estimuladora sobre la unión a RBz en la MEL en forma similar a lo descrito en otras regiones del sistema nervioso central y b) esta acción puede producirse por síntesis local de P. Esto sugiere una posible modulación parácrina de RBz por acción de neuroesteroides en la MEL. (PIP089/99-CONICET).

- 254. (621) ALTERACION DE PARAMETROS CEREBRALES EN RATONES DIABETICOS POR ESTREPTOZOTOCINA (STZ): POSIBLE REVERSION CON TRATAMIENTO ESTROGENICO.** REVSIN YANINA, SARAVIA Flavia, ROIG Paulina, LIMA Analia, HOMO-DELCARCHE Francoise, DE NICOLA Alejandro.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, Fac. Medicina UBA, Inserm 25 Htal. Necker Paris Francia

La diabetes insulino-dependiente se acompaña de alteraciones cognitivas, plasticidad neuronal predisposición al accidente cerebrovascular y demencia. En ratones espontáneamente diabéticos y por STZ describimos aumento de hormonas hipotalámicas, astrogliosis hipocámpal y alteraciones en activación neuronal y estrés oxidativo. Es conocido el rol neuroprotector de estradiol (E2) previniendo la muerte celular y estimulando la regeneración, la transmisión sináptica y la neurogénesis. Evaluamos si el tratamiento con E2 revierte la alteración de los parámetros observados en el modelo de STZ, estudiando ratones C57BL/6 machos controles (CT) o diabéticos implantados con 17-b-estradiol (STZ+E2) o colesterol (STZ+Col) durante 10 días. En el hipocampo de STZ+ E2 el número de astrocitos GFAP positivos disminuyó con respecto a STZ+Col ($CT 23.4 \pm 2.1$; STZ+Col: 31 ± 1.3 , $p < 0.05$; STZ+E2: 17.9 ± 1.4 , $p < 0.001$ vs STZ+Col). Los astrocitos positivos para Apolipoproteína E - marcadora de neurodegeneración - en ratones STZ+E2 tendieron a recobrar el número hallado en los CT. En el hipotálamo, el tratamiento de los diabéticos con E2 disminuyó en el núcleo paraventricular la expresión del ARNm para vasopresina en un 80% y en un 60% la actividad de NADPH diaforasa versus los STZ+Col. Sugerimos que el tratamiento con E2 en el modelo de STZ revertiría cambios astrocitarios y neuronales, lo que permitiría proponerlo como una estrategia coadyuvante para tratar las disfunciones cerebrales de la diabetes experimental.

- 255. (627) ¿SON DETECTADOS LA TOTALIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTI-GLICOESFINGOLIPIDOS EN LOS METODOS CONVENCIONALES DE MEDICION?** COMÍN ROMINA, LOPEZ Pablo, VILLA Andres, SAIZAR Roberto, DI EGIDIO Marianna, SICA Roberto, NORES Gustavo.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Servicio de Neurología-Hospital Ramos Mejía-Ciudad de Buenos Aires

Anticuerpos anti-glicoesfingolípidos (GSL) están asociados a neuropatías. Los métodos convencionales de medición (MCM) empleados para su detección son HPTLC-Imunotinción y ELISA. Distintas evidencias sugieren que la exposición oligosacárida en estos métodos no abarca la totalidad de los epítopes reconocidos por anticuerpos anti-GSL. En este sentido, detectamos en algunos conejos inmunizados con GM1 y en ciertos pacientes con neuropatías la presencia de anticuerpos que reconocen GM1 en forma soluble pero no en las condiciones presentes en los MCM. Sin embargo los mismos fueron detectados en MCM por su reactividad con GA1, un glicolípido estructuralmente relacionado a GM1. Adicionalmente, estos anticuerpos fueron capaces de reconocer en MCM derivados de GM1 caracterizados por la ausencia de grupos químicos involucrados en la estabilización de su estructura tridimensional. Resultados similares fueron obtenidos con anticuerpos anti-GD1a indicando que este tipo inusual de anticuerpos no es un fenómeno limitado a GM1. Estos resultados demuestran la existencia de anticuerpos que reconocen epítopes en la molécula de GM1 no expuestos en los MCM, realzando la importancia de la exposición oligosacárida en la determinación de anticuerpos asociados a autoinmunidad. Finalmente, la detección

de estos anticuerpos es de suma importancia en la comprensión del mecanismo etio-patogénico de las neuropatías autoinmunes.

- 256. (691) EFECTO DE LA MELATONINA SOBRE LOS CAMBIOS CIRCADIANOS EN ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE HÁMSTER DORADO PRODUCIDOS POR LA INYECCIÓN DE BETA-AMILÓIDE EN LOS NÚCLEOS SUPRAQUIASMÁTICOS.** FURIO ANALÍA, CUTRERA Rodolfo A., CASTILLO THEA Víctor, PÉREZ LLORET Santiago, RICCIO Patricia, CACCURI Roberto L., BRUSCO Luis I., CARDINALI Daniel P.

Dep. Fisiología, Fac. Medicina, UBA

En la enfermedad de Alzheimer se presentan alteraciones cronobiológicas, posiblemente por acumulación de péptido beta-amiloide (BA) en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ). Sin embargo no hay estudios experimentales que evalúen las alteraciones circadianas producidas por inyección de BA. En este estudio evaluamos: (a) el efecto sobre la actividad locomotora de la inyección de BA en NSQ de hámster; (b) la acción preventiva de la melatonina sobre el daño inducido por BA. Se monitoreó la actividad en rueda (Dataquest III) de hámsteres mantenidos en fotoperiodo 14:10 luz-oscuridad. Los animales fueron inyectados con BA (fragmento 25-35; 1 µl de una solución 100 µM en salina) o con 1 µl de salina en cada NSQ. La mitad de animales cada grupo recibió melatonina en agua de bebida (25 µg/ml) durante 2 semanas previas a la inyección. En comparación con los animales tratados con salina (que no modificaron el comienzo de la fase de actividad significativamente con respecto al pretratamiento) los hámsteres tratados con BA demostraron un avance de fase de 21.8 ± 7.1 min (media \pm ES, $n=6$ /grupo) ($p=0.032$, ANOVA). También se observó una variabilidad del comienzo de actividad mayor en el grupo tratado con BA (3.0 ± 0.7 vs. 0.9 ± 0.1 $p<0.001$, ANOVA). La administración previa de melatonina previno tanto el adelanto de fase como el aumento en la variabilidad de los comienzos producidos por el péptido ($p<0.02$, MANOVA). La melatonina previene los efectos circadianos de BA en NSQ del hámster.

- 257. (710) PARTICIPACIÓN DEL NADT EN LA REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN MÉDULO-ADRENAL, RECEPTORES B-ADRENÉRGICOS CARDÍACOS Y LA RESPUESTA DE ANSIEDAD EN RATAS CON DEPRIVACIÓN MATERNA TEMPRANA Y ESTRÉS CRÓNICO.** MOLINA SANDRA MARÍA DEL VAL, SUÁREZ Marta, RIVAROLA Angélica, LEVIN Gloria, ENDERS Julio, PAGLINI Patricia.

Instituto de Fisiología Dr. Oscar Orías Fac. de Cs Exs, Fis. y Nat. UNC. Centro de Investigaciones Endocrino-nológicas (CEDIE) CONICET

Las estructuras límbicas controlan la función neuroendócrina y simpático-adrenal en condiciones basales y en situaciones de estrés. Se evaluó los niveles de adrenalina (A), noradrenalina (NA), receptores β -adrenérgicos cardíacos (β -rec) e índice de ansiedad en respuesta a privación materna neonatal y estrés crónico variable impredecible (EVI), en ratas con lesiones en los núcleos anterodorsales talámicos (NADT). Treinta días luego de la lesión de los NADT, en animales criados con la madre, las concentraciones plasmáticas de A fueron elevadas y la densidad de los β -rec fueron más bajas que en el grupo control ($P<0.05$). La separación materna (4.5 hs/día durante las tres 1° semanas de vida) produjo un incremento significativo de A y NA y la densidad de los β -rec disminuyó en animales lesionados ($P<0.05$) respectivamente. Luego del EVI (24 días de exposición a diferentes estresores) y con lesión del NADT, aumentó marcadamente la A y NA y disminuyó la densidad de los β -rec ($P<0.05$) evidenciando un efecto down regulation. La privación materna más EVI en adultos, provocó una fuerte disminución de la densidad de los β -rec ($P<0.05$) y ocasionaron también una disminución de la ansiedad manifestada por un aumento del porcentaje de entradas y el tiempo de permanencia en brazos abiertos ($P<0.05$) (plus maze). La lesión del NADT potencia las respuestas de estrés y privación materna con un efecto ansiolítico. Además participa en la regulación médulo-adrenal a través de ella en la actividad cardíaca.

- 258. (721) EFECTO DE LA DESNERVACIÓN SIMPÁTICA SOBRE EL HUESO MANDIBULAR EN RATAS.** LADIZESKY MARTA, LAMA María A., ROLDÁN Emilio J., CUTRERA Rodolfo A., BOGGIO Verónica, GIGLIO Máximo J., CARDINALI Daniel P.

Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas "José de San Martín", UBA; Dep Fisiología, Fac. Medicina, UBA; Patol. Clínica Bucodental I, Fac. Odontología, UBA; PQCT SA.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto mandibular de la gangliectomía cervical superior unilateral (Gx) mediante análisis morfométrico radiográfico y de densidad ósea volumétrica (vBMD). En un primer estudio en ratas sometidas a Gx unilateral y operación simulada contralateral 30 días antes ($n=5$ /grupo) sólo disminuyeron significativamente por la deservación los indicadores morfométricos de unidad esquelética sinfisial ($p<0.02$). La vBMD disminuyó en 10.7 % en la hemimandíbula ipsilateral a la deservación simpática ($p<0.04$). En un segundo estudio, efectuado en condiciones de acortamiento unilateral de incisivos (erupción no impedida) realizada ipsilateral o contralateralmente a la Gx unilateral ($n=6-10$ /grupo), se observaron índices morfométricos mayores en mandíbulas deservadas en condiciones de erupción impedida y menores en mandíbulas deservadas en condiciones de erupción dentaria no impedida ($p<0.02$). El estímulo producido por la erupción no impedida resultó en aumento de vBMD total sólo en hemimandíbulas inervadas (media \pm ES) (693 ± 18 mg/cm³ vs. 600 ± 10 en erupción impedida, $p<0.001$) y produjo efectos opuestos sobre el vBMD de la porción cortical ósea en presencia de inervación (aumento) o en ausencia de inervación (disminución). La vBMD de la porción trabecular del hueso disminuyó en un 13 % luego de la deservación ($p<0.007$) en ambas condiciones de erupción dentaria. Estos resultados apoyan una regulación simpática del modelado óseo mandibular.

- 259. (825) MODULACIÓN POR EL GLOBO PÁLIDO DORSAL Y VENTRAL DE LA ACTIVIDAD DEL NÚCLEO RETICULAR DEL TÁLAMO (NRT).** RUIZ GUILLERMINA, ABADÍA Bernadette, BELFORTE Juan, PAZO Jorge.

Laboratorio de Neurofisiología, Dept. Fisiología, Facultad de Medicina, UBA

El NRT es el único núcleo talámico con acción inhibitoria y se lo ha relacionado con los mecanismos del sueño, como con la fisiopatología del temblor observado en la enfermedad de Parkinson. Nuestro interés fué determinar la influencia del globo pálido dorsal (GPD) y del globo pálido ventral (GPV) sobre la actividad neuronal espontánea. Los experimentos se realizaron en ratas anestesiadas con uretano. Se registró la actividad neuronal del NRT con micropipetas y se estimuló eléctricamente el GPD y GPV. La actividad neuronal espontánea del NRT se caracteriza por tener 3 patrones de descarga: irregular (48%), regular (26%) y mixto (26%). Se observó una diferencia significativa para los coeficientes de variación (CV) entre las descargas regulares y los otros grupos (0,92 y 0,71 vs 0,35 las regulares, $p<0.005$ ANOVA de una vía). La estimulación con pulsos simples del GPD inhibe al 75% de las neuronas del NRT y el GPV al 53%. La inhibición del GPD es mayor que la del GPV ($57,1 \pm 14,7$ % vs $25,4 \pm 9$ %, $p<0.05$, t-test, $n=23$). Concluimos que esta acción inhibitoria del GPD y GPV sobre el NRT indirectamente activa a la corteza cerebral por desinhibición de las aferencias talámo-corticales, lo que funcionalmente puede ser relevante en la fisiología de los ganglios basales y las relaciones talámo-corticales.

- 260. (841) INHIBICIÓN DE LAS AFERENCIAS SENSORIALES NOCICEPTIVAS E INOCUAS POR EL ESTRIADO DE LA RATA.** BELFORTE JUAN, ABADÍA Bernadette, RUIZ Guillermina, PAZO Jorge.

Laboratorio de Neurofisiología, Dept. de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA

Estudios recientes sugieren un rol de los ganglios basales en la nocicepción y la analgesia endógena. Hemos demostrado que la activación del estriado es capaz de inhibir el reflejo de apertura bucal (RAB) evocado por la estimulación de la pulpa dental. Este efecto

estaría mediado por la inhibición de la respuesta generada en las neuronas sensoriales del núcleo espinal del trigémino (NE5). El objetivo fue establecer si la acción inhibitoria estriatal se restringía a las aferencias nociceptivas del NE5. Para ello, en ratas anestesiadas con uretano, se estimuló eléctricamente la pulpa dental y se evaluó el RAB mediante el EMG del músculo digástrico. Se estudió la actividad neuronal unitaria espontánea y evocada en el núcleo motor del trigémino (Mo5) y en el NE5 antes y después de la estimulación estriatal con glutamato. La estimulación estriatal fue capaz de inhibir la respuesta nociceptiva evocada en neuronas del NE5 ($52,4 \pm 11,8$ vs $34,9 \pm 10$ descargas, t test $p < 0,01$) y del Mo5 ($53,8 \pm 2,2$ vs $23 \pm 1,8$ descargas, $p < 0,001$) en el 100 % de los casos ($n=14$), sin embargo la actividad basal de este último no se modifica con el tratamiento ($6,06 \pm 1,6$ vs $5,94 \pm 1,8$ Hz, $p=0,84$). La activación estriatal inhibió la respuesta evocada por estímulos inocuos en neuronas del NE5 en el 54 % de los casos ($40,3 \pm 7,7$ %, $p < 0,05$). Concluimos que, el estriado modula el RAB actuando sobre las neuronas sensoriales y no sobre las motoras y su acción inhibitoria no está restringida a estímulos nociceptivos.

- 261. (846) ESTUDIO DEL DAÑO OXIDATIVO RETINIANO INDUCIDO POR LA HIPERTENSIÓN OCULAR CRÓNICA EXPERIMENTAL.** MORENO MARÍA CECILIA, SAENZ Daniel, KELLER SARMIENTO María Inés, CAMPANELLI Julieta, BENOZZI Jorge, ROSENSTEIN Ruth.

Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, U.B.A.

La inyección crónica intracameral de ácido hialurónico (AH) induce una hipertensión ocular sostenida que provoca cambios funcionales e histológicos retinianos compatibles con el glaucoma humano. El objetivo de este trabajo fue estudiar el daño oxidativo inducido por la hipertensión ocular. Para ello, se analizaron por métodos espectrofotométricos los niveles de glutatión reducido (GSH), la peroxidación lipídica (TBARS) y las actividades de catalasa y glutatión peroxidasa (GPx) en la retina de ratas inyectadas con AH o con vehículo en el ojo contralateral (una vez/semana). Luego de 4 semanas de tratamiento, la actividad de catalasa y los niveles de GSH disminuyeron significativamente (control: $54,6 \pm 6,8$ AH: $38,2 \pm 5,2$ nmol/min. mg prot; control: $20,4 \pm 0,9$, AH: $16 \pm 0,3$ nmol/mg prot, respectivamente). La actividad de GPx y los niveles de TBARS no se modificaron. Luego de 7 semanas de tratamiento, las diferencias en la actividad de catalasa persistieron (control: $57,5 \pm 5,4$, AH: $40,5 \pm 2,6$ nmol/min. mg prot), y aumentaron significativamente la actividad de la GPx (control: $1,78 \pm 0,3$, AH: $2,33 \pm 0,1$ nmol/min. mg prot) y los niveles de TBARS ($16,8 \pm 2,5$ vs $21,4 \pm 3,3$ nmol/mg prot). Los niveles de GSH no se modificaron. Estos resultados sugieren que los cambios funcionales e histológicos inducidos por la hipertensión ocular podrían involucrar una disminución en la actividad de los sistemas de defensa antioxidante. Se postula una asociación entre el glaucoma y el estrés oxidativo

- 262. (1143) ACTIVIDAD ENZIMÁTICA Y FUNCIONAL DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA MITOCONDRIAL DE CEREBRO: EFECTO IN VITRO E IN VIVO DE LA CLORPROMAZINA.** D'AMICO GABRIELA, LORES ARNAIZ Silvia, BUSTAMANTE Juanita, BOVERIS Alberto.

Cátedra de Físicoquímica - PRALIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

El óxido nítrico (NO) es generado en las mitocondrias por la óxido nítrico sintasa mitocondrial (mtNOS), y ejerce una acción reguladora sobre la respiración mitocondrial. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad enzimática y funcional de la mtNOS de cerebro y evaluar si alteraciones en el metabolismo del NO pueden desempeñar un papel relevante en el efecto farmacológico de la droga antipsicótica clorpromazina (CPZ). Se administró CPZ a ratones (10 mg/kg, i.p., 1 hora) y se determinó en mitocondrias: producción de NO y $H[[2]]O[[2]]$, consumo de oxígeno y análisis por Western Blot. También se evaluó el efecto in vitro. La mtNOS de cerebro (147 kDa) reacciona con anticuerpos anti nNOS y muestra una actividad enzimática de 0.48 nmol NO/min.mg proteína, a un pH óptimo de 5.8. La suplementación directa de membranas submitocondriales con CPZ inhibió la mtNOS ($C[[50]] = 2.4 \mu M$). Mitocondrias de ratones tratados

mostraron un 48% de inhibición de la mtNOS y un incremento en el estado 3 (30-40%). El consumo de oxígeno en mitocondrias control fue un 16% menor por adición de L-Arg y un 56% mayor por L-NNA, indicando una actividad funcional regulatoria de la mtNOS. Los efectos fueron menos marcados en animales tratados (5 y 6%). La producción de $H[[2]]O[[2]]$ no fue afectada por L-Arg pero disminuyó un 30% por L-NNA, este último efecto estuvo ausente en ratones tratados. La CPZ inhibe la actividad de la mtNOS alterando la respiración y producción mitocondrial de $H[[2]]O[[2]]$.

ONCOLOGÍA III

- 263. (377) CANCER Y ESTRES OXIDATIVO. EXPRESION Y LOCALIZACION DE HEMOXIGENASA-1 EN TEJIDO PROSTATICO HUMANO.** SACCA Paula, CASAS Gabriel, CELESTE Francisco, BATLLE Alcira, MAZZA Osvaldo, VAZQUEZ Elba.

Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias Qca Biológica, FCEyN-UBA. Hospital de Clínicas, Cát. Urología. Hospital Alemán, Servicio Patología.

La isoforma 1 de la hemoxigenasa, enzima responsable del catabolismo del hemo, es una proteína marcador de estrés. El hemo es el grupo prostético del P450, involucrado en la biosíntesis de esteroides prostáticos. El aumento de HO-1 puede resultar en una disminución de 5 alfa dehidrotestosterona. Si el tejido maligno se independiza de los andrógenos se perdería la ventaja de la activación de HO-1 como protectora contra estrés oxidativo. El objetivo es establecer el rol, la distribución y un patrón de expresión HO-1 en tejido prostático humano. Se realizó un análisis inmunohistoquímico para HO-1 en los siguientes casos: 11 carcinomas con diagnóstico de progresión (CP), 11 con buena evolución (CBE) y 9 de hiperplasia prostática (BHP). Las muestras se incubaron con Ab policlonal anti HO-1 y segundo Ab biotinilado. La reacción se visualizó usando streptavidina-biotina peroxidasa y DAB. Las células epiteliales no tumorales marcaron (citoplasma) en el 77.8% de los casos de BHP, 63.6% de CBE y 36 % en CP. Las células tumorales marcaron (núcleo) en el 36 % de los carcinomas (4/11 de CBE y 4/11 de CP). Las células epiteliales no tumorales muestran tendencia a la marcación citoplasmática y las células tumorales, nuclear, no relacionada con el grado de progresión. La expresión citoplasmática de HO-1 estaría relacionada con su función protectora en células epiteliales no tumorales. Su translocación nuclear detectada en tejido tumoral podría promover la transcripción de genes.

- 264. (470) TRATAMIENTO DEL CANCER INDIFERENCIADO DE TIROIDES (CIT) POR CAPTURA NEUTRONICA EN BORO (BNCT).** DAGROSA MARÍA ALEJANDRA, VIAGGI Mabel, LONGHINO Juan, CALZETTA Osvaldo, CABRINI Romulo, EDREIRA Martin, JUVENAL Guillermo, PISAREV Mario.

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA. Div. Bioquímica Nuclear, Depto Radiobiología (C.A. Constituyentes) y Reactor RA-6 (C.A.Bariloche), CNEA

El cáncer indiferenciado de tiroides humano (CIT) carece de tratamiento y la sobrevida no supera el año. Ratones nude transplantados con CIT (línea humana ARO) captan selectivamente borofenilalanina (10BPA) (Thyroid 12:7,2002). Se trataron ratones transplantados con CIT por BNCT. Se utilizaron dos dosis de 10BPA : 350 y 600 mg/kg peso corporal. Se irradiaron con un flujo de 2,8 108 n/cm2/seg durante 62 min. El 10B se transforma en 11B que desintegra liberando 7Li, radiación gamma y partículas alfa, éstas últimas destruyen localmente el tumor. El volumen del tumor fue medido con calibre, y se realizaron estudios histológicos del mismo. Se utilizaron: ratones controles sin tratamiento ($n=10$); irradiados ($n=18$); irradiados+ 350 mg BPA ($n=18$) e irradiados+ 600 mg BPA ($n=18$). Sólo en el último grupo se observó la inhibición del crecimiento del tumor en el 100% de los animales durante 30 días ($p < 0,001$). Cuando el volumen tumoral fue menor a 50 mm³ se obtuvo curación histológica en el 50% de los ratones ($p < 0,001$). El daño al ADN por ensayo de cometa (inmediatamente post-irradiación) mostró una respuesta proporcional a la dosis física absorbida de radiación (concentración de BPA x flujo de neutrones). Es-

tos resultados abren la posibilidad de un nuevo tratamiento para el CIT humano.

- 265. (522) POLIAMINAS Y RESISTENCIA CONCOMITANTE ANTITUMORAL(RC).** RUGGIERO RAÚL ALEJANDRO, HOCKL Pablo, LOMBARDI Gabriela, GRION Lorena, BUSTUOABAD Oscar.

Academia Nac. de Med. Sección Medicina Experimental; IBYME, Buenos Aires

La RC es el fenómeno por el cual un individuo portador de un tumor inhibe el crecimiento de un implante secundario de ese tumor. Puede ser inducido por un mecanismo inmunológico y no inmunológico. Este último correlaciona con un factor inhibitorio de la proliferación tumoral presente en el suero de ratones con tumores que inducen RC. Este factor, aún no caracterizado, es de bajo peso molecular, resistente al calor, al ácido y al álcali. Dado que las poliaminas comparten estas propiedades y que algunas de ellas, especialmente espermina y espermidina, han mostrado acción antitumoral, se decidió estudiar su presencia en el suero de 8 ratones portadores de tumor LB(SLB) con título de actividad antitumoral: 265+ 27 UI50/ml. Como control se usó el suero de 6 ratones normales(SN) con título de 28+7 UI50/ml. La identificación de las poliaminas se realizó por HPLC y su concentración se expresó en picomoles/20 microlitros. Los valores obtenidos fueron: espermidina: SLB: 10,5+2; SN: 8+ 1 ; espermina: indetectable para SLB y SN; putrescina: SLB: 16+2; SN: 3+ 1 ($p < 0.01$) y n-acetil putrescina: SLB: 154+2; SN: 155+ 3. Distintas concentraciones de putrescina-desde una 10 veces inferior hasta otra 2000 veces mayor que la hallada en SLB- se ensayaron sobre la proliferación in vitro de LB usando el ensayo de 3H-timidina. En ningún caso se observó inhibición de la proliferación de LB. Esto sugiere que las poliaminas no estarían implicadas en la actividad antitumoral sérica asociada a la RC.

- 266. (525) EFECTO DE UNA MASA DE TEJIDO EMBRIONARIO (TERATOMA) SOBRE EL DESARROLLO TUMORAL.** GRION LORENA, BUSTUOABAD Oscar, MEISS Roberto, RUGGIERO Raúl.

Academia Nac. de Med. Sección Medicina Experimental CEO, Buenos Aires

Con el propósito de estudiar el efecto que una masa de tejido embrionario ejerce sobre el desarrollo tumoral, se planeó el siguiente experimento. Embriones de ratones BALB/c de 7-10 de desarrollo (duración de preñez es de 21 días), fueron disociados e inoculados sc. en ratones BALB/c adultos a razón de un embrión por ratón receptor. Los teratomas empiezan a crecer a los 15 días y luego continúan haciéndolos hasta los 60-70 días. A partir de allí el crecimiento se detiene y, mientras algunos regresionan, otros permanecen sin cambio como una masa grande, pero sin daño para el huésped, por largos períodos. Nunca observamos cambios malignos en ellos. Ratones portadores de teratomas de 15, 30, 45 y 60-70 días de evolución y en regresión recibieron un inóculo contralateral de 1x10⁵ (5) células del tumor MC-C. Los controles sólo recibieron el implante de MC-C. El volumen de MC-C al día 30 y la sobrevida de los ratones portadores de MC-C fueron respectivamente: Control: 3650+400mm³ y 38+5 días (n=11); Teratoma 15 días: 3450+550mm³ y 40+ 4 días (n=12); Teratoma 30 días: 2900+200mm³ ($p < 0.05$) y 48+3 días; Teratoma 45 días: 1955+310 ($p < 0.01$) y 55+5 días (n=11) ($p < 0.01$); Teratoma 60-70 días: 990+220mm³ ($p < 0.001$) y 69+9 días (n=12) ($p < 0.002$); Teratoma en regresión; 3530+350mm³ y 36 +4 días. Estos resultados indican que un teratoma ejerce un efecto inhibitorio sobre el desarrollo tumoral en proporción directa a su masa en crecimiento; efecto que desaparece cuando el teratoma entra en regresión.

- 267. (680) FACTORES REGULADORES DE LA ANGIOGENESIS EN CANCER EPITELIAL OVARICO.** GALLO CALDERON MARINA, BONFIL Daniel.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos

El cáncer de ovario es la neoplasia ginecológica con mayor tasa de mortalidad entre las mujeres occidentales. Proponemos investigar la presencia de factores pro-angiogénicos y antiangiogénicos en el sobrenadante de cultivo de 5 líneas celulares (SKOV3, 2008,

A2780, A1847 OVCAR5) de carcinoma de ovario humano. Se detectó bFGF y VEGF por ELISA y angiostatina por Westernblot. Se encontró VEGF únicamente en el medio condicionado de la línea SKOV3 (80.8±2.8ng/ml); Las concentraciones de bFGF detectadas fueron las siguientes (en ng/ml): 369.2±59.6, 281±32, 158±38, 339±47.6 y 0 en las líneas mencionadas, respectivamente. Concentración correspondiente a 10((6)) células. Se detectó mayor cantidad de angiostatina en las líneas SKOV3 y OVCAR5. Se realizaron ensayos de proliferación en una línea endotelial de rata RVEC. Se observó un efecto inhibitorio de la proliferación celular dosis dependiente con los medios condicionados de las líneas mencionadas a excepción de la línea A1847. En la línea SKOV3, la mayor producción de angiostatina contrarrestaría el efecto proliferativo del VEGF, resultando un efecto neto de inhibición de la proliferación celular. El efecto inhibitorio de las otras líneas, estaría dado por la presencia de angiostatina y la falta o baja cantidad de factores proliferativos. El balance de factores angiogénicos y antiangiogénicos liberados por las líneas estudiadas, es importante en el resultado que lleva a la inhibición de la proliferación de la línea endotelial.

- 268. (701) PROLIFERACION INDUCIDA POR EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-ALFA (TNF) Y PROGESTAGENOS EN CARCINOMAS MAMARIOS.** SCHILLACI ROXANA, CARNE-VALE Romina, SALATINO Mariana, PROIETTI Cecilia, CHARREAU Eduardo, ELIZALDE Patricia V.

Instituto de Biología y Medicina Experimental

En células de carcinoma mamario el TNF generalmente tiene efecto citostático y/o citotóxico los cuales pueden ser modulados por hormonas. Se ha descrito que el estradiol es capaz de antagonizar los efectos citotóxicos del TNF pero poco se sabe de su interacción con los progestágenos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del TNF sobre la proliferación de células de carcinoma mamario mediada por progestágeno. Para ello utilizamos el modelo murino C4HD, cuyo crecimiento depende del acetato de medroxiprogesterona (MPA), y la línea humana T47D. Se evaluó la proliferación por incorporación de timidina H3 en presencia de TNF (30ng/ml) y/o MPA (10nM) en C4HD y en T47D a las 48 y 24h respectivamente. Comprobamos que el TNF aumentó un 88±27% la proliferación en C4HD y un 30±15% en T47D y además indujo un incremento del 42±6% y 97±5% respectivamente en presencia de MPA. Al analizar la expresión del receptor tipo II del TNF, subunidad mediadora del efecto proliferativo en timocitos, demostramos su presencia en las ambos tipos celulares. La proliferación mediada por TNF disminuyó un 46±14% en C4HD y 51±6% en T47D en presencia del inhibidor de MEK1 PD98059 (10µM) y este compuesto bloqueó totalmente el efecto del TNF en presencia de MPA en ambos tipos celulares. Estos resultados demuestran que el TNF induce la proliferación de las células C4HD y T47D cooperando, además, con el efecto mitogénico de los progestágenos, y en ambos casos estarían involucradas las ERK1 y 2.

- 269. (746) CAPACIDAD METASTÁSICA DEL MELANOMA MURINO B16 EN DOS MODELOS TRANSGÉNICOS QUE SOBREEXPRESAN EL INHIBIDOR TISULAR DE METALOPROTEASAS-1 HUMANO (HTIMP-1).** RIPOLL GISELLE, DE LORENZO Mariana , ALONSO Daniel , GOMEZ Daniel.

Laboratorio Oncología Molecular. Universidad Nacional de Quilmes

El TIMP-1 es una glicoproteína que participa en la remodelación de la matriz extracelular en procesos patológicos asociados a la invasión tumoral y metástasis. Investigamos la capacidad metastásica de células B16 en ratones transgénicos C57BL/6j-CBA con distintos niveles de expresión del hTIMP-1 en sangre. Se utilizó un modelo que sobreexpresa hTIMP-1 en hígado bajo el control del promotor de albúmina (Alb-TIMP-1) con altos niveles plasmáticos (486 a 548 ng/ml), y otro que expresa el hTIMP-1 bajo el promotor del virus de tumor mamario murino (MMTV-TIMP-1) en mama, glándulas salivales y pulmón, pero con mínimos niveles en plasma (<25 ng/ml). Como controles se utilizaron híbridos salvajes. Se inyectaron 200.000 células B16 por vía endovenosa y 3 semanas después se evaluaron las metástasis pulmonares superficiales. Se observó una drástica disminución en la colonización metastásica experimental en los anima-

les que sobreexpresaban hTIMP-1 en sangre, pero no en aquellos con expresión en pulmón y bajos niveles circulantes (Control: 97 ± 16 ; Alb-TIMP-1: $20 \pm 4^*$; MMTV-TIMP-1: 81 ± 24 nódulos/ratón; * $p < 0.05$, ANOVA). La diseminación metastásica espontánea a partir de tumores B16 subcutáneos mostró una tendencia similar en los ratones Alb-TIMP-1, si bien se observó una progresión rápida del tumor primario. Los resultados sugieren que altas concentraciones de TIMP-1 en sangre serían capaces de inhibir la colonización metastásica en pulmón de células de melanoma murino B16.

- 270. (839) EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL FACTOR INHIBIDOR DE LEUCEMIA (LIF) EN LA REGULACIÓN DE LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES MAMARIAS NORMALES Y TUMORALES.** QUAGLINO ANA, SCHERE-LEVY Carolina, VANZULLI Silvia, MEISS Roberto, KORDON Edith.

ILEX-CONICET, Acad. Nac. Med. Centro de estudios Oncológicos. Academia Nacional de Medicina.

El LIF es una citoquina que posee diferentes actividades biológicas según el tipo celular en el que esta actuando. Hemos demostrado previamente el rol pro-apoptótico de este factor durante la involución del epitelio mamario in vivo. Sin embargo, otros autores indican que el LIF induce una respuesta proliferativa en células de cáncer de mama humano. El objeto de este trabajo fue determinar si existen diferencias en la expresión y actividad del LIF en células tumorales mamarias murinas con respecto a células normales. Mediante análisis de RNA (Northern blot y/o RT-PCR semicuantitativo) demostramos que el LIF se expresan en similar magnitud en tumores mamarios inducidos por MMTV, en líneas celulares normales (NMuMG y HC11) y tumorales (LM3 y LMM3) mamarias murinas. Asimismo, observamos la expresión de LIF en tumores mamarios in vivo. Con respecto al efecto del LIF in vitro, el tratamiento de las líneas celulares normales provocó una inhibición de la síntesis de DNA, medida tanto por citometría de flujo como por incorporación de Timidina 3H (15% respecto al control). Sin embargo, cuando tratamos a las células tumorales con LIF en el mismo rango de dosis, obtuvimos un aumento significativo de la síntesis de DNA (20 % con respecto al control). Estos resultados sugieren que el LIF posee un rol fisiológico diferente en el epitelio mamario tumoral con respecto al observado en el normal.

- 271. (917) EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE HEMO OXIGENASA 1 Y CORRELACIÓN HISTOLÓGICA EN HÍGADO DE RATONES SOMETIDOS A UNA INTOXICACIÓN CRÓNICA CON P-DIMETILAMINOAZOBENCENO.** CABALLERO FABIANA, GEREZ Esther, GIMENEZ Alejandra*, BATLLE Alcira, VAZQUEZ Elba, MEISS Roberto*.

*Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias, Dto de Química Biológica, FCEN, UBA-CONICET * Instituto de Estudios Oncológicos. Academia Nacional de Medicina.*

La hemo oxigenasa (HO) cataliza la degradación del hemo produciendo hierro libre, CO y bilirrubina. La isoforma inducible HO1 funciona como un sistema efectivo de defensa contra el daño celular; su activación jugaría un papel importante en el control de procesos inflamatorios. Se ha sugerido que un daño celular prolongado, debido a inflamaciones crónicas, es crítico en el desarrollo de tumores. En trabajos previos hemos demostrado el rol del estrés oxidativo en los estadios tempranos de la hepatocarcinogénesis (HC) químicamente inducida y la relevancia de la HO1. En el presente trabajo se estudian los cambios histológicos y la expresión y distribución de HO1, en hígados de ratones machos CF1 que recibieron p-dimetilaminoazobenceno (DAB, 0,5% p/p en la dieta) durante 395 días. La expresión de HO1 a nivel de hepatocitos, con histología normal, se incrementó en función del tiempo de ingesta y se observó una marcada disminución o ausencia de expresión en focos de alteración hepatocitaria (FAH), adenomas y carcinomas. En todos los estadios de la HC se encontró un aumento de células de Kupffer y macrófagos, ambos con intensa expresión de HO1. Los resultados ponen en evidencia un fenómeno en el cual estarían relacionadas la expresión de HO1 y la presencia de macrófagos con la aparición histológica de neoplasias en este modelo experimental, apoyando la teoría regulatoria de la HO1 y su implicancia en el desarrollo de tumores.

- 272. (1032) EL BLOQUEO DE LA MOLÉCULA DE ADHESIÓN NCAM INHIBE LA DISEMINACIÓN METASTÁSICA DE UNA LÍNEA CELULAR DE CARCINOMA PULMONAR MURINO.** TODARO LAURA, PURICELLI Lydia, URTREGER Alejandro, SACERDOTE DE LUSTIG Eugenia, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa.

Area Investigación del Instituto de Oncología "A. H. Roffo"

NCAM se expresa en el sistema nervioso y en varios tumores como en el cáncer de pulmón a células pequeñas. Nos propusimos estudiar la participación de NCAM en el comportamiento biológico de la línea celular LP07, derivada de un tumor de pulmón murino de origen epitelial glandular con componente neuroendócrino. La expresión de NCAM se evaluó en homogenatos y cultivos primarios tumorales. Para ello, ratones BALB/c ($n=15$) inoculados sc con 300000 células LP07 fueron sacrificados a los 25 y 48 días de portación tumoral. Los western blot de los homogenatos revelaron la presencia de una isoforma de 80 kDa cuya expresión aumentó con el crecimiento tumoral ($p < 0.05$); otra isoforma de 120 kDa sólo fue detectada en los estadios más avanzados. Los lisados celulares de los cultivos primarios mostraron resultados similares. Por otro lado, ratones BALB/c ($n=30$) fueron inoculados iv con 300000 células LP07 incubadas: a) con anti NCAM, b) con IgG pre inmune o c) MEM solo. A los 21 días post-inóculo se observó una disminución en el número (a) 13 (4-75) b) 38 (11-88) c) 49 (24-103), ($p < 0.01$), y tamaño de los nódulos pulmonares en los ratones inoculados con células tratadas con anti-NCAM. En LP07 se detectaron distintas isoformas de NCAM, cuya expresión varía a lo largo del crecimiento tumoral. La disminución de las metástasis experimentales con anti NCAM sugiere que esta molécula favorecería la colonización del órgano blanco de la metástasis.

- 273. (1095) ACTIVACIÓN DE METALOPROTEASAS Y NFKB EN LÍNEAS CELULARES TUMORALES.** ALANIZ LAURA, CÁPULA Marina, BLANCO Guillermo, ALVAREZ Elida, HAJOS Silvia.

Cátedra de Inmunología, IDHEU. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET

El Acido Hialurónico (AH) es un componente de la matriz extracelular (ME), capaz de inducir distintos efectos celulares al interactuar con receptores de superficie, en especial con la molécula de adhesión CD44; ambas moléculas involucradas con procesos neoplásicos. Nuestro objetivo fue determinar en células tumorales los efectos que ejerce AH sobre la actividad de metaloproteasas (MMPs), ya que éstas juegan un papel importante en la invasión degradando componentes de la ME. Además estudiamos la activación de NFKB por AH, dado que induce la expresión de genes involucrados en el desarrollo tumoral. Se usaron dos líneas celulares derivadas de un linfoma murino (LBLa y LBLc), cultivadas en la presencia o ausencia de HA durante 24hs y con o sin tratamiento con el Mab IM7 anti-CD44 murino. Por zimografía se evaluó la actividad de MMPs encontrando un aumento de la actividad gelatinolítica en los sobrenadantes de cultivo de LBLa después de la incubación con HA significativamente mayor comparado con LBLc; actividad que se redujo al tratar con el Mab IM7. Por Western blot se corroboró la presencia de MMP-2 y MMP-9. Se analizó la actividad de NFKB por EMSA en extractos nucleares de LBLa y LBLc luego de 3hs de tratamiento con HA. Demostramos que HA a 200ug/ml fue capaz de activar NFKB en LBLa pero no en LBLc. Nuestros resultados indican que HA moduló la actividad de NFKB y de MMPs correlacionándose con el comportamiento más agresivo y capacidad invasiva de LBLa respecto de LBLc.

- 274. (1102) EL HIPERTIROIDISMO ACELERA EL CRECIMIENTO DE LA LÍNEA TUMORAL DE PULMÓN LP07 EN EL SUBCUTÁNEO, PERO DISMINUYE EL DE LAS METÁSTASIS PULMONARES ESPONTÁNEAS Y EXPERIMENTALES DEL MISMO.** COLOMBO LUCAS LUIS, KLECHA Alicia, GORELIK Gabriela, CREMASCHI Graciela.

Area Investigacion, Int. Roffo. CEFYBO (Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos)-CONICET

Investigamos el efecto del status tiroideo sobre el crecimiento del tumor primario subcutáneo (sc) y de las metástasis pulmonares

(MP) en el adenocarcinoma de pulmón murino LP07, como antes lo hicimos con el tumor mamario LM3. A día cero se inocularon 300.000 células LP07 sc (n=40) o en vena (iv) (n=30) en hembras BALB/c hipertiroideas (Hper) (inyección ip de 40 µg/día/ratón de T4, desde el día -28 hasta su muerte) (n=15 sc y 10 iv), Hipotiroideas (Hpo) (Propil-Tio-Uracilo 0,05% en bebida desde el día -14, y Sol. Fisiol ip idem días que los Hper) (n=15sc y 10 iv) y Controles (Ct) (SF ip idem días que Hper) (n=10 sc y 10 iv). Los tumores sc crecieron más rápido en los Hpr. Pendientes (mm/día) Mediana (rango): Ct: 0,28 (0,22-0,35), Hpo: 0,25 (0,18-0,34), Hpr: 0,37 (0,24-0,43) (p<0.001 Vs Hpo). Peso tumor (g) al morir : Ct: 3,38 (1,27-5,34), Hpo: 3,27 (1,22-5,62), Hpr: 5,91 (4,09-7,81) (p<0.001 Vs Hpo y Ct). El número de MP espontáneas no varió significativamente, pero sí, eran más chicas en los Hpr: % de MP< de 0,5 mm de diámetro: Ct:13,32 (0,77-46,15), Hpo: 13,71 (0-33,33), Hpr: 20,31 (10,29-41,17) (p<0.01 Vs Hpo). Las MP experimentales (post iv) en los Hpr fueron menos: Ct: 65 (11-212), Hpo: 106 (9-179), Hpr: 5 (1-12) (p<0.01 Vs Ct, y p<0.001 Vs Hpo), y más chicas: % de metástasis > de 1,5 mm de diámetro: Ct: 2,12 (0-10,1), Hpo: 2,68 (0-9,9), Hpr: 0 (0-8,33). P<0.05 Vs Hpo. Demostramos que el hipertiroidismo afecta inversamente el crecimiento sc y pulmonar del tumor LP07.

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES I

275. (501) TRADUCCIÓN DE LA SEÑAL DE INSULINA EN MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATONES LONGEVOS DE LA CEPA AMES. DOMINICI FERNANDO, ARGENTINO Danila, TURYN Daniel.

Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

La disminución de la expresión de genes involucrados en la señalización de insulina/IGF-1 origina una prolongación de la vida. Los ratones con la mutación Prop1 (ratones enanos cepa Ames), son deficientes en hormona de crecimiento (GH), PRL y TSH e IGF-1 y viven hasta un 65% más que los controles. Previamente, se detectó una regulación positiva en los primeros pasos de la transducción de la insulina in vivo en el hígado de estos animales. Para caracterizar la interrelación entre la GH, la señalización de insulina y el envejecimiento, se analizó el estado de los primeros componentes de la señalización de insulina in vivo en el músculo esquelético de dichos animales. Luego de la administración de insulina, se detectó una reducción del 55% (P < 0.01) en la fosforilación del receptor de insulina (IR), una disminución del 79 (P < 0.001) y 26% (P < 0.01) en la fosforilación de IRS-1 e IRS-2, junto con una disminución del 66 y 35% (P < 0.001) en la cantidad de dichas proteínas. La asociación entre la subunidad reguladora de la enzima fosfatidilinositol (PI) 3-quinasa y el IRS-1 e IRS-2 disminuyó un 80 y 41% respectivamente (P < 0.05). Esto se asoció a disminuciones del 66 y 21% en la activación de PI 3-quinasa y Akt en este tejido. La atenuación detectada en el sistema de transducción de la insulina podría tener relación con la reducción de la masa muscular, la disminución de la actividad locomotriz espontánea y la prolongación de la longevidad exhibida por estos animales.

276. (545) EFECTOS INSULINOMIMÉTICOS DE NA[[6]][VO(TRE)][2]]. 4H[[2]]JO EN OSTEÓBLASTOS EN CULTIVO. ESTUDIO DE LAS VÍAS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES. BARRIO DANIEL A, CORTIZO Ana, ETCHEVERRY Susana.

Cátedra de Bioquímica Patológica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata CEQUINOR, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata

El vanadio es un elemento de transición presente en cantidades de traza en los seres vivos, con importantes efectos biológicos y farmacológicos. Diversos compuestos de vanadio poseen propiedades insulino miméticas en diferentes tipos celulares. La insulina estimula el consumo de glucosa activando la quinasa de fosfatidilinositol (PI3-K) y la proliferación celular a través de la activación de las quinasas reguladas extracelularmente (ERK1/2). Aunque los mecanismos de acción del vanadio no se conocen completamente, éste

podría utilizar las mismas vías que la insulina. En este trabajo sintetizamos un nuevo complejo de vanadio(IV) con trehalosa (TreVO) (Na[[6]][VO(Tre)][2]].4H[[2]]O) e investigamos sus efectos en osteoblastos MC3T3E1, tratando de establecer su mecanismo de acción. TreVO (2.5-25 µM) estimuló la proliferación celular (120% del basal, p<0.001) y el consumo de glucosa (145 % del basal, p<0.001). El efecto mitogénico fue inhibido por wortmanina (inhibidor de la PI3-K) y por PD98059 (inhibidor de quinasas de ERK). Sin embargo, el consumo de glucosa no fue suprimido por estos inhibidores. TreVO estimuló la fosforilación de ERK(1/2) en forma dosis respuesta, efecto que fue inhibido por wortmanina y PD98059. En conclusión se sintetizó un nuevo derivado de vanadio(IV) con propiedades insulino miméticas, encontrando que su efecto mitogénico estaría mediado por la vía PI3-K/MEK/ERK, mientras que el consumo de glucosa utilizaría una vía alternativa en osteoblastos en cultivo.

277. (548) LAS CELULAS PRESENTADORAS DE ANTIGENO MODULAN LA ANGIOGENESIS TUMORAL POR MEDIO DE LA ACTIVACION DE RECEPTORES COLINERGICOS MUSCARINICOS. DE LA TORRE EULALIA, DAVEL Lilia, JASNIS María Adela, GOTOH Tomomi, LAURIA Lilia, S. DE LUSTIG Eugenia, SALES María Elena.

Instituto Roffo. Area Investigacion; UBA, Dep. Mol. Gen. School of Medicine, Kumamoto University, Japan

Hemos demostrado que macrófagos (Mfs) provenientes de animales portadores de la línea tumoral LMM3 (MfsT) coinoculados con células LMM3 potencian la respuesta angiogénica inducida por dichas células. Investigamos la participación de receptores muscarínicos (RM) en la modulación de la angiogénesis tumoral. Por Western blot (Wb) de muestras de piel del sitio angiogénico, observamos un incremento en la expresión de la proteína CD31, marcadora de neovasos, con respecto al control (DO/mm(2)) (control:0.002; LMM3: 0,092; LMM3+MfsT: 0,464) confirmando la respuesta del bioensayo. Además los MfsT (3x10((5))) dieron una respuesta vascular positiva (d= n° de vasos/mm(2)) (2,34±0,06)(n=5) con respecto al control (1,75± 0,20)(n=9) inoculado con Mfs normales (MfsN). El agonista carbacol (CARB) (10((-7))M) estimuló la respuesta de los MfsT (4,96±0,41; n=5), el efecto fue bloqueado por atropina (AT) (10((-6))M). El CARB incrementó la actividad de arginasa (A) (mmoles de urea/h/106 cel.) (76,65±5,6; n=4) en MfsT con respecto al basal (22,2±3,2; n=4) y en MfsN (32,3±2,3; n=5) con respecto al basal (10,12±0,69; n=4). Dicho efecto fue bloqueado por AT. Por Wb estudiamos la expresión de las isoformas AI y AII y observamos que MfsT presentan una mayor expresión de AI (2,740) que MfsN (1,98). Concluimos que la respuesta angiogénica tumoral se modula positivamente por MfsT a través de la activación de los RM que promueven la metabolización de arginina hacia la síntesis de poliaminas.

278. (549) EFECTO PARADOJAL DE LOS BLOQUEANTES DE CANALES DE CLORURO SOBRE LAS CORRIENTES IÓNICAS DE LOS OVOCITOS DE BUFO ARENARUM. CAVARRA MARÍA SOLEDAD, KOTSIAS Basilio.

Laboratorio de Neurofisiología, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, UBA.

Continuando la caracterización de las corrientes nativas en ovocitos de *B. arenarum*, se evaluó el efecto de dos bloquenas de canales de cloruro mediante la técnica de control del potencial con dos microelectrodos. Los datos fueron registrados y analizados con el programa PClamp. El NPPB 20 µM provocó el aumento de las corrientes salientes (60 mV 58.9 ± 31.1 %, p<0.05 n= 8). El 9-ACA 5 mM incrementó las corrientes salientes (60 mV 80.1 ± 17.2 %) y entrantes (-100 mV 30.7 ± 22.9 %, p<0.05 n= 26) tomando el potencial de reversión (Er) más negativo. El efecto del 9-ACA sobre las corrientes salientes fue aún mayor cuando se disminuyó la concentración externa de K(+) (60mV 286.2 ± 59.7 %, p<0.05 n= 8). Las corrientes inducidas por el NPPB y el 9-ACA son revertidas por el lavado con solución control o por la exposición a BaCl{{2}} 1 mM, bloqueante de canales de K(+). El reemplazo del Cl((-)) extracelular por glutamato produce el aumento de las corrientes salientes (60 mV 98.9 ± 28.0%) y entrantes (-100 mV 121.5 ± 88.3 %, p<0.05 n= 8). Estos resultados sugieren que el bloqueo de canales de Cl((-)) des-

enmascara una corriente catiónica transportada por iones $K^{(+)}$. El 9-ACA es más potente en su efecto que el NPPB. El reemplazo de $Cl^{(-)}$ extracelular genera una respuesta similar, sugiriendo un papel directo de este anión en la regulación de la corriente catiónica. Este efecto debe ser considerado cuando se utilicen drogas con la finalidad de eliminar corrientes de $Cl^{(-)}$.

279. (559) MECANISMO DE ACCIÓN DE LA GLIBENCLAMIDA COMO BLOQUEANTE DEL CANAL DE CLORURO CON RECTIFICACIÓN SALIENTE (ORCC). ASSEF YANINA, KOTSIAS Basilio.

Lab. Neurofisiología, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, Universidad de Buenos Aires

En la línea celular K562 de una leucemia mieloide crónica humana, mediante la técnica de patch clamp se observó un canal con selectividad aniónica, baja permeabilidad al gluconato ($P_{\{Gluc\}} / P_{\{Cl\}} = 0.14$) e inducido por forskolina ($20 \mu M$), un activador de la adenilato ciclasa. El canal presenta una mayor conductancia a pulsos positivos: $19.1 \pm 17.3 pS$ y $39.8 \pm 7.8 pS$ ($n=10$) para las corrientes entrantes y salientes, respectivamente. La actividad del canal es bloqueada por glibenclamida cuando es agregada en el medio intracelular. La inhibición se incrementa con el aumento de la concentración del bloqueante: K_i ($60 mV$) $\pm SD = 66.2 \pm 11.0 \mu M$ ($n=5$) y está caracterizada por una disminución de la probabilidad de apertura (P_o) del canal sin afectar la conductancia individual: $P_o_{\{control\}} \pm SD = 0.82 \pm 0.12$; $P_o_{\{glib 50\}} \pm SD = 0.54 \pm 0.11$, ($60 mV$, $n=18$). La disminución de la probabilidad de apertura es independiente del voltaje en el rango de concentraciones de glibenclamida estudiada ($25-100 \mu M$) lo que hace suponer que el bloqueante se une a un lugar cercano al poro del canal. El efecto sobre la probabilidad de apertura se debe a una disminución de la constante de tiempo abierto (t_o). El canal estudiado comparte todas sus características con el ORCC encontrado en otros tipos celulares y que es modulado por el canal regulador de la conductancia transmembrana en la fibrosis quística (CFTR), pero aún no fue descrito en células de origen no epitelial.

280. (569) CORRIENTES IÓNICAS DE SODIO EN OVOCITOS DE BUFO ARENARUM. DEL MÓNACO SILVANA MARÍA, GIRGUL-SKY Luciana, CAVARRA Soledad, KOTSIAS Basilio.

Laboratorio de Neurofisiología, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, UBA.

Ante la posibilidad de expresar canales de $Na^{(+)}$ sensibles al amiloride aislados de placenta humana en los ovocitos de Bufo arenarum, se decidió estudiar las corrientes de $Na^{(+)}$ nativas de estas células mediante la técnica de control del potencial con 2 microelectrodos. Los datos fueron registrados y analizados utilizando el programa Pclamp. El reemplazo del $Na^{(+)}$ extracelular por NMDG, produjo una reducción en las corrientes entrantes ($25.6 \pm 8.4 \%$ a $-100 mV$, $p < 0.05$ $n = 7$) cuyo potencial de reversión (E_r) fue de $52 mV$. La aplicación de TTX $60 \mu M$ resultó en una disminución de las corrientes entrantes ($21.4 \pm 1.3 \%$ a $-100 mV$, $p < 0.05$ $n = 6$), con un $E_r = 0.84 mV$. La exposición a 8-Br-AMPC ($25-75 \mu M$), un activador de las corrientes de $Na^{(+)}$ sensibles al amiloride no modificó las corrientes basales. El amiloride 5 , 50 y $100 \mu M$ provocó una disminución transitoria de las corrientes salientes ($80 mV$, $10.7 \pm 6.0 \%$, $13.3 \pm 3.7 \%$ y $14.8 \pm 4.4 \%$ respectivamente, $p < 0.05$), sin afectar las corrientes entrantes. Los ovocitos de Bufo arenarum exhiben una corriente entrante de $Na^{(+)}$ evidenciada al reemplazar dicho catión por NMDG e inhibida por TTX $60 \mu M$; las diferencias en el E_r pueden deberse a que el canal involucrado sea parcialmente permeable al $K^{(+)}$. El AMPc es incapaz de activar corrientes entrantes de $Na^{(+)}$. La corriente saliente inhibida por amiloride no comparte las propiedades del canal de $Na^{(+)}$ epitelial sensible a dicho bloqueante que se quiere expresar.

281. (661) CFTR-RG2, UN NUEVO MIEMBRO DE LA FAMILIA DE KINESINAS REGULADO POR CFTR. SOTOMAYOR VERONICA, MARCUCCI Florencia, SANTA COLOMA Tomás.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Luis F. Leloir UBA, CONICET.

Utilizando "Differential Display" (DD), hemos demostrado recientemente que la tirosina kinasa c-Src constituye un puente entre la sobreproducción de mucinas y la falla del CFTR en fibrosis quística (FQ) (González Guerrico et al., J Biol Chem 2002, 277:17239-47). Ahora describimos otro gen CFTR-dependiente, que hemos denominado CFTR-RG2, y que codifica para un nuevo miembro de la familia de kinesinas (motores de ATP) de función desconocida. Su ARNm esta modulado negativamente en células CFDE y los niveles son restaurados en células CFDE transfectadas con el CFTR normal (células CFDE/6RepCFTR). Estas últimas tratadas con glibenclamida (inhibidor de CFTR), respondieron como las CFDE, demostrando una relación causa-efecto. La modulación negativa de CFTR-RG2 por CFTR fue confirmada mediante Northern blots y FISH confocal. La secuencia proteica predicha de CFTR-RG2 tiene además un motivo de translocación mitocondrial y un motivo ND4 (ubiquinone-NADH-oxidoreductase). Estos motivos sugieren una localización y función mitocondrial, función disminuida en Fibrosis Quística. Es interesante que el ARNm de la proteína ND4 también se encuentre disminuido en FQ y que CFTR-RG2 y ND4 tengan un motivo en común, sugiriendo una posible función regulatoria de CFTR-RG2 sobre ND4. Los resultados obtenidos sugieren que la disminución de CFTR-RG2 podría estar involucrada en la falla mitocondrial observada en Fibrosis Quística. Agradecimientos: Realizado en parte con subsidios de UBA, CONICET y ANPCyT.

282. (662) IDENTIFICACION MEDIANTE DISPLAY DIFERENCIAL DE ND4 MITOCONDRIAL COMO UN GEN DEPENDIENTE DE CFTR, CANAL AFECTADO EN FIBROSIS QUISTICA. MARCUCCI FLORENCIA, SOTOMAYOR Verónica, REYES Gloria, SANTA COLOMA Tomás.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas Luis F. Leloir UBA, CONICET.

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva debida a mutaciones en el canal de cloruro CFTR. Mediante display diferencial (DD) demostramos previamente que la tirosina kinasa c-Src es modulada por CFTR y es responsable de la sobreproducción de mucus en FQ (González Guerrico et al., J Biol. Chem, 277:17239, 2002). Ahora describimos la caracterización preliminar de ND4, otro gen dependiente de CFTR, identificado utilizando DD sobre ARNm extraídos de células derivadas de un paciente FQ (CFDE), células CFDE transfectadas con CFTR normal (CFDE/6RepCFTR) y éstas tratadas con glibenclamida (inhibidor de CFTR). En células CFDE se observó la disminución de un fragmento de cDNA, identificado luego como ND4, una subunidad del complejo NADH-ubiquinona oxidoreductasa codificada por el genoma mitocondrial. La disminución fue revertida luego del tratamiento con glibenclamida, indicando que la expresión de ND4 depende de la actividad de transporte por CFTR. Los resultados fueron confirmados por Northern blots (ARNm de 1.5 kb) e hibridaciones in situ en cortes de pulmón normales y enfermos FQ. Utilizando una sonda de potencial (JC-1) en microscopía confocal y citometría de flujo, se determinó que las células CFDE se encuentran más depolarizadas que las CFDE/6RepCFTR. Estos resultados sugieren que la disminución de ND4 explicaría las alteraciones mitocondriales observadas en Fibrosis Quística. Agradecimientos: Realizado en parte con subsidios de UBA, CONICET y ANPCyT.

283. (714) PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA DEPENDIENTE DE FOSFATIDILINOSITOL 3 KINASA-PROTEÍNA KINASA B (PI3K-PKB) EN LA REGULACIÓN FUNCIONAL DE LA CÉLULA DE SERTOLI (CS) POR IL1 β . MERONI SILVINA, RIERA Fernanda, PELLIZZARI Eliana, CIGORRAGA Selva

Centro de Investigaciones Endocrinológicas, Hospital de Niños R. Gutiérrez

Se conoce que IL1 β activa múltiples sistemas de transducción de señales en distintos tipos celulares. Hemos demostrado previamente que esta citoquina utiliza un sistema dependiente de NO para regular la actividad de gamma-glutamiltanspeptidasa (gGTP) en CS. El objetivo de este trabajo fue analizar si IL1 β utiliza el sistema dependiente de PI3K-pkB para regular otras respuestas metabólicas de la CS. Se utilizaron cultivos de CS aisladas de ratas de 20 días de edad estimulados con IL1 β ($50 ng/ml$) en ausencia o presencia de un inhibidor de PI3K, wortmanina ($W:100 nM$). Se analizó por Western

blot la fosforilación de pKb (pKbP). Se observó que IL1 β estimula los niveles de pKbP (5, 15 y 30 min) y que W inhibe dicho estímulo. Se analizaron luego la producción de lactato, la incorporación de glucosa y las actividades de lactato deshidrogenasa (LDH) y gGTP. Los resultados se expresan como media \pm DS, n=3. Se observó que W inhibe la producción de lactato (B:5.7 \pm 0.5((a)); IL1 β :11.6 \pm 3.3((b)); IL1 β +W:6.3 \pm 2.7((a)), μ g/ μ gDNA), la incorporación de glucosa (B:635 \pm 78((a)); IL1 β :955 \pm 49 ((b)); IL1 β +W: 706 \pm 68((a)), dpm/ μ gDNA) y la actividad de LDH (B:38.2 \pm 3.2((a)); IL1 β :53.6 \pm 6.8((b)); IL1 β +W: 43.3 \pm 1.1((a)), UI/ μ gDNA) estimuladas por IL1 β (distintas letras indican diferencias significativas, p<0.05). W no fue capaz de inhibir la actividad de gGTP estimulada por IL1 β . Los resultados sugieren que IL1 β utiliza un sistema dependiente de PI3K-pKb para regular respuestas metabólicas específicas de la CS

- 284. (751) PARTICIPACIÓN DE LA PROTEÍNA KINASA ACTIVADA POR MITÓGENOS (MAPK) EN LA REGULACIÓN POR EL FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO BÁSICO (bFGF) DE LA FUNCIONALIDAD DE LAS CÉLULAS DE SERTOLI (CS).** RIERA FERNANDA, MERONI Silvina, PELLIZZARI Eliana, CIGORRAGA Selva.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas. Hospital de Niños R. Gutiérrez

Demostramos previamente que bFGF regula la funcionalidad de la CS mediante la activación de la vía PI3K/pKb. Existen cada vez mas evidencias en la literatura de factores que utilizan más de una señal para ejercer su efecto biológico. El objetivo de este trabajo fue evaluar cómo participa la vía dependiente de MAPK en la regulación por bFGF de la funcionalidad de la CS. Se utilizaron cultivos provenientes de ratas de 20 días de edad que fueron estimulados con bFGF (30ng/ml) en ausencia o presencia de un inhibidor de MEK (U0126, U: 1 μ M). En el análisis por Western blot de p44/p42 fosforilada se observó un aumento de la misma luego de la incubación con bFGF (5 a 30 min), que se inhibe en presencia de U. Luego se analizaron parámetros funcionales de las CS estimuladas por bFGF en presencia de U. La secreción de transferrina (TRF) y la actividad de lactato deshidrogenasa (LDH) estimuladas por bFGF son inhibidas en presencia de U (TRF:B:76.4 \pm 2.2((a)), bFGF:141 \pm 12((b)), bFGF+U:116 \pm 7((c)) ng/ μ gDNA; LDH:B:10.3 \pm 0.5((a)), bFGF:19.9 \pm 3.5((b)), bFGF+U: 14.2 \pm 1.3((c)) UI/ μ g DNA, media \pm DS, n=3, diferentes letras indican diferencias significativas p<0.05). U no modifica la incorporación de 2-deoxiglucosa estimulada por bFGF en CS. Resultados similares se obtuvieron utilizando otro inhibidor de MEK (PD98059). Los resultados obtenidos sugieren que la vía de MAPK participa en el mecanismo de acción utilizado por bFGF para regular la secreción de TRF y la actividad de LDH en células de Sertoli.

- 285. (844) REGULACIÓN RECÍPROCA DE RECEPTORES H2 A HISTAMINA Y LOS NIVELES DE LA QUINASA DE RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNA G DE TIPO 2 (GRK2). IMPLICANCIA EN LA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS U937.** FERNANDEZ NATALIA, MONCZOR Federico, RIVEIRO Eugenia, BALDI Alberto, DAVIO Carlos, SHAYO Carina.

IByME, FFyB-UBA Laboratorio de Radioisótopos

En células U937 el tratamiento con agonista H2 (agoH2) aumenta los niveles de AMPc pero no induce diferenciación debido a la rápida desensibilización del receptor H2 (rH2), mediada por GRK2. En este trabajo, evaluamos la relación entre los niveles de GRK2 y la respuesta del rH2, y su implicancia en la diferenciación de U937. Células U937 transfectadas con cDNA antisentido para GRK2 (clones A2 y D5) mostraron por western blot menores niveles de GRK2, una mayor respuesta de AMPc a agoH2 (Rmax: A2=426 \pm 47; D5=472 \pm 67; U937=465 \pm 95fmol/106cels) y una menor desensibilización (t1/2: A2=40.8 \pm 5.3; D5=51.7 \pm 5.3; U937=1 1.7 \pm 1.6min). AgoH2 indujo en estos clones la expresión del marcador de diferenciación CD88. Ensayos de unión mostraron que al reducir GRK2 disminuyó la cantidad de rH2. Por otro lado, al sobreexpresar el rH2 en U937 (508000 \pm 37000 vs 29700 \pm 1600sitio/cel) observamos un aumento de GRK2 independiente de los niveles de AMPc que resultaron similares en ambos sistemas. Por el contrario, agentes que provocaron un aumento sostenido de

AMPc disminuyeron GRK2. Concluimos que la disminución de GRK2 conduce a una mayor respuesta y menor desensibilización del rH2 permitiendo la diferenciación de U937 con agoH2. Por otro lado, estos datos sugieren una regulación recíproca entre los niveles de GRK2 y rH2. Recientemente, se han asociado diversas patologías a los niveles de GRK2. Esta quinasa podría ser considerada un posible blanco terapéutico para el tratamiento de leucemias promonocíticas.

- 286. (902) ESTIMULACION DE LA CAPTACION DE L-DOPA POR INSULINA: SEÑALES INTRACELULARES INVOLUCRADAS.** CARRANZA MARÍA ANDREA, BARONTINI Marta, NOWICKI Susana.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CONICET)

Resultados previos de nuestro laboratorio indican que la insulina humana (200 uU/ml, 2min, IN) aumenta en un 40% la captación de L-dopa (LD) por células aisladas del túbulo proximal de rata (cTP). Dada la escasa información sobre los segundos mensajeros que median la facilitación de la captación de aminoácidos por IN, nos propusimos analizar las vías intracelulares involucradas en este efecto en cTP. La inhibición de Tirosina Kinasa (TK) (Genisteina 5uM), de Fosfatidil Inositol-3-kinasa (PI3K) (Wortmanina 100nM ó LY294002 25uM), ó de PKC (RO 318220 0.1uM) revirtió el efecto de IN sobre la captación de LD por cTP, sin modificar la captación basal de LD. La inhibición de Tirosina Fosfatasa (Pervanadato, 12.5uM, PV) aumentó en un 90% la captación basal de LD. No hubo sumatoria de efectos entre IN y PV a estas concentraciones. La incubación de cTP con IN incrementó la fosforilación en Tirosina del receptor de IN en un 29%. La activación de TK se mantuvo durante al menos 40 min. La IN produjo activación de la PKC (medida como translocación de sus isoformas del citosol a la membrana). La activación de PKCzeta persistió durante 60min, mientras que la de PKCalfa y PKCdelta fue transitoria (2 min). Estos resultados sugieren que el incremento de la captación de LD por IN en cTP requiere la activación de la TK, PI3K y PKC. La activación transitoria de las isoformas de PKCalfa y delta coincide con la corta duración del efecto de la IN sobre el transporte del aminoácido descripta en cTP.

- 287. (942) INTERACCIÓN ENTRE LA RESPUESTA DE AMPC MEDIA DA POR EL RECEPTOR H2 Y LA VÍA DE MAPK. SU RELACIÓN CON LA PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN EN CÉLULAS PROMONOCÍTICAS HUMANAS.** NOTCOVICH CINTIA, FERNANDEZ Natalia, MONCZOR Federico, BALDI Alberto, SHAYO Carina, DAVIO Carlos.

Lab. de Radioisótopos, FFyB-UBA; Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET

En la línea promonocítica U937 la histamina activa mecanismos de diferenciación pero, debido a la rápida desensibilización de su receptor H2 (rH2) (dependiente de GRK2), es incapaz de inducirlo. Clones generados a partir de U937 con menores niveles de GRK2 (D5), o que sobreexpresan rH2 (B10) mostraron frente a agonistas H2 (agoH2) una respuesta de AMPc mayor y más duradera, permitiendo la diferenciación. Los agentes que elevan AMPc presentan efectos variados sobre proliferación y diferenciación, en función del tipo celular, siendo uno de sus blancos la vía de MAPK. Se evaluó el efecto de la respuesta del rH2 sobre esta vía en U937, D5 y B10 para determinar su relación con los procesos mencionados. Estudios realizados por conteo celular mostraron una disminución significativa en la proliferación por agoH2 en B10 (p<0,001) y en D5 (p<0.05) respecto de U937. Mediante western blot evaluamos los niveles de MAPK-P/MAPKt. Ensayos dosis respuesta y cinéticas con agoH2 indicaron una disminución respecto del nivel basal de MAPK-P/MAPKt, dosis (EC50 U937=100 \pm 9; D5=95 \pm 10; B10=111 \pm 7 nM) y tiempo dependiente (Inhmax 60min para U937, D5 y B10) en las tres líneas. Otros agentes que elevan los niveles de AMPc mostraron resultados similares. Las diferencias entre las líneas en cuanto a diferenciación y proliferación, no se correlacionan con una modificación en los niveles de MAPK-P sugiriendo que esta vía no sería un blanco terapéutico apropiado para el tratamiento de leucemias promonocíticas.

288. (975) LA SEÑALIZACIÓN Y LA SECRECIÓN ESTIMULADAS POR VIP SE ENCUENTRAN DISMINUIDAS EN GLÁNDULAS SALIVALES DE RATONES NOD. ROSIGNOLI FLORENCIA, ROCA Valeria, ROJAS Federico, PÉREZ LEIRÓS Claudia.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA-CONICET

La sialadenitis desarrollada por ratones diabéticos no obesos (NOD) es un modelo útil para estudiar los mecanismos etiopatogénicos que subyacen a la sintomatología sicca característica del Síndrome de Sjögren. Tanto en pacientes como en ratones se ha sugerido un origen nervioso más que inmune de la disfunción secretoria. Dado que el péptido intestinal vasoactivo (VIP) es un mensajero común de los sistemas nervioso e inmune y media respuestas secretorias e inflamatorias, nos propusimos examinar la señalización estimulada por VIP en glándulas salivales de ratones NOD previo a la aparición de infiltración linfomononuclear. Usamos ratones BALB/c como control (Ctr). Determinamos la actividad de óxido nítrico sintetasa (NOS) usando L-(U-((14))C)arginina como sustrato, los niveles de AMPc y GMPc por RIA y la secreción de amilasa según Bernfeld. Encontramos una disminución significativa de la actividad de NOS en glándulas de ratones NOD en respuesta al VIP (parótidas NOD: $0,4 \pm 0,1$ pmol/mg; Ctr: $1,5 \pm 0,2$ n=5, $p < 0,05$). La estimulación de los niveles de AMPc y GMPc por VIP 10((-7)) M fue menor en glándulas de NOD (AMPc-parótidas NOD: $15,2 \pm 2,9$ pmol/g; Ctr: $42,5 \pm 7,0$ n=4, $p < 0,05$) junto con una reducción del flujo salival y secreción de amilasa. Concluimos que las glándulas de ratones NOD presentan una menor respuesta al VIP y esta alteración se manifiesta antes de la aparición de lesiones histológicas.

289. (996) CARACTERIZACIÓN DE LA DISMINUCIÓN EN LA ACTIVIDAD DE ÓXIDO NÍTRICO SINTETASA (NOS) EN GLÁNDULAS SALIVALES DE RATONES NOD. ROSIGNOLI FLORENCIA, PREGI Nicolás, ROCA Valeria, ROJAS Federico, PÉREZ LEIRÓS Claudia.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA-CONICET

Los ratones NOD desarrollan sialadenitis con disfunción secretoria comparable al síndrome de Sjögren en humanos. El óxido nítrico actúa como mediador inflamatorio y mensajero intracelular de neurotransmisores que aumentan el flujo salival. Previamente informamos una menor actividad de NOS en glándulas salivales de ratones NOD, nos propusimos investigar posibles mecanismos que contribuyen a dicha alteración. La actividad de NOS se midió en glándulas submaxilares (SM) y parótidas de ratones NOD y controles (Ctr) BALB/c con L-[U-((14))C]-arginina como sustrato en distintas condiciones (glándulas enteras o extractos, concentraciones de sustrato, tiempos) y en presencia de inhibidores de NOS, arginasa y proteínas kinasas. La expresión de NOS se examinó por inmunohistoquímica y los niveles de GMPc por RIA. No observamos diferencias en la expresión de las tres isoformas de NOS en las glándulas. La actividad, en cambio, se halló disminuida en glándulas enteras de ratones NOD en las condiciones empleadas (SM: sustrato $1,5 \mu\text{M}$, 30 min: NOS pmol/mg tejido; NOD $1,1 \pm 0,3$; Ctr $2,2 \pm 0,2$ n=4 $p < 0,05$). La inhibición de NOS también se observó en extractos de SM (fmol/min/mg prot NOD $20,3 \pm 5,3$; Ctr $39,3 \pm 1,7$ n=4 $p < 0,05$). En presencia de KN-93, inhibidor de Ca^{2+} -Calmodulina quinasa II, aumentaron significativamente la actividad de NOS y los niveles de GMPc en los NOD. Los resultados sugieren que una modificación postraduccional de la NOS contribuiría a la menor actividad observada en ratones NOD.

290. (1000) PONIENDO EN HORA AL RELOJ BIOLÓGICO: EFECTOS DE LA LUZ Y NGF SOBRE LAS MAPK Y LOS RITMOS EN MAMÍFEROS. PIZZIO GASTÓN A, HAINICH Ernesto C, COSO* Omar A, GOLOMBEK Diego A.

*Universidad Nacional de Quilmes *LF y BM, FCEN, UBA, Buenos Aires, Argentina*

El reloj biológico de mamíferos se encuentra en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) del hipotálamo. Las oscilaciones de este

reloj se pueden sincronizar a 24 horas por medio del ciclo luz-oscuridad, que pone en hora al reloj por una vía retinohipotalámica glutamatérgica. En este trabajo analizamos los efectos sincronizadores de la neurotrofina NGF (nerve growth factor) y de la luz, así como los posibles mecanismos intracelulares que median sus efectos. La inyección icv de NGF a diferentes horas del día muestra el mismo efecto sincronizador producido por la luz sobre los ritmos circadiano (aunque de menor amplitud). Los efectos simultáneos de NGF y luz no son aditivos, sugiriendo un paso en común en su mecanismo de acción. Por otro lado, analizamos por western blot el comportamiento de las MAPKs clásicas: ERK, JNK y p38, observando que su actividad varía tanto diaria como circadianamente, con picos durante el día o día subjetivo 4 horas antes del apagado de las luces o del comienzo de la actividad locomotora, respectivamente. Pulsos de luz nocturnos (que causan cambios de fase), pero no diurnos, activan ERK y JNK. Los efectos sincronizadores de la neurotrofina NGF están acoplados, al menos en parte, a las cascadas de señalización sincronizadoras activadas por la luz. Las enzimas MAPK están presentes tanto en la generación de ritmos circadianos como en su sincronización fótica, sugiriendo un rol central en el reloj biológico de mamíferos.

291. (1085) LECTINAS CON ESPECIFICIDAD POR GLUCOSAMANOSA AISLADAS DE SEMILLAS DE PLANTAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA LEGUMINOSAE ESTIMULAN LA AUTOFOSFORILACIÓN DEL RECEPTOR DE INSULINA IN VITRO. IGLESIAS MARÍA MERCEDES, TRONCOSO María Fernanda, CAVADA Benildo*, DOMINICI Fernando

IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. ¹Bio-Mol Lab, Universidad Federal de Ceará, Fortaleza, Brasil.

La autofosforilación del receptor de insulina (IR) en respuesta a la insulina es un evento central en la mediación de las acciones de la insulina que origina la activación de la tirosina quinasa intrínseca del IR y la posterior fosforilación de diversas proteínas citosólicas. La concanavalina A (ConA) es una lectina que reconoce residuos de glucosa y manosa que puede interaccionar con el IR estimulando su autofosforilación. En el presente trabajo se investigó el efecto sobre la autofosforilación del IR de lectinas que muestran alta homología de secuencia con la ConA, que fueron recientemente aisladas de semillas de las plantas *Canavalia brasiliensis* (ConBr), *Dioclea virgata* (Dv), *Dioclea rostrata* (Dr) y *Cratylia floribunda* (Cf). Todas las lectinas analizadas estimularon la autofosforilación del IR de manera dosis-dependiente. La incubación con ConA ($40 \mu\text{g/ml}$) estimuló la autofosforilación de IRs purificados en un $84 \pm 12\%$, las lectinas de ConBr y Dr originaron aumentos de 93 ± 18 y $92 \pm 8\%$ respectivamente a concentraciones de $4 \mu\text{g/ml}$. Las lectinas de Dv y Cf demostraron menor potencia y eficiencia, estimulando la autofosforilación del IR en un $48 \pm 15\%$ y $58 \pm 11\%$ respectivamente a la máxima concentración estudiada ($400 \mu\text{g/ml}$). En las mismas condiciones, la insulina originó una estimulación del 500 a 700%. Ninguna de las lectinas estudiadas inhibió la unión de insulina a IRs purificados. Se demostró que todas las lectinas estudiadas presentan actividad insulino-mimética.

292. (1120) RITMOS BIOLÓGICOS, CALCINEURINA Y ALGO MÁS. KATZ MARCELO, SIMONETTA Sergio, GOLOMBEK Diego.

Laboratorio de Cronobiología - Universidad Nacional de Quilmes - Bernal, Bs. As., Argentina

Los ritmos circadianos en mamíferos están coordinados por células marcapasos en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo (NSQ), y su sincronización a ciclos ambientales de 24 hs dependen de la actividad de enzimas dependientes de calcio y calmodulina. La proteína fosfatasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina, calcineurina (CN), es blanco de los inmunosupresores ciclosporina A (CsA) y tacrolimus (FK-506) y los pacientes transplantados tratados con estas drogas tienen afectados ciclos diarios de actividad-reposo y de presión arterial. Utilizando registros de actividad locomotora y ensayos de actividad enzimática, reportamos evidencias en hamsters dorados sobre la influencia de CN en la actividad del reloj biológico. En condiciones constantes, tanto la administración ip como icv de CsA y FK506 induce cam-

bios de fase circadianos de tipo no fóticos, así como reduce las respuestas a estímulos de luz en un 45% y un 62% respectivamente. En una aproximación por entender los mecanismos moleculares de estas respuestas, hemos encontrado que calcineurina se expresa constitutivamente en los núcleos supraquiasmáticos y que luego del mismo tratamiento que genera cambios comportamentales se modifica la actividad de esta enzima. Proponemos entonces que la actividad de calcineurina es requerida para la normal progresión de los ritmos circadianos y las respuestas circadianas a la luz, participando en la estabilización de los productos de los genes relojeros.

ENDOCRINOLOGÍA IV

- 293. (446) ROL DE LA TIROIDES Y DE LA NOREPINEFRINA EN LA TERMOGÉNESIS DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN RATAS NORMALES O HIPOTIROIDEAS ACLIMATADAS AL FRÍO.** ZANINOVICH ANGEL, RAICES Marcela, REBAGLIATI Inés, RICCI Conrado.

Hospital de Clínicas, Medicina Nuclear Hospital de Clínicas, Lab. de Investigaciones Tiroideas e INGEBI, Universidad de Buenos Aires.

La supresión de la función tiroidea en ratas normales aclimatadas a 4°C no afecta la síntesis de la proteína desacoplante (UCP-1) ni el consumo de oxígeno mitocondrial (VO₂) de grasa parda (BAT) (Amer J Physiol Endocrinol Metab 283: E496-E502, 2002). La normotermia de estas ratas sugiere que otros tejidos termogénicos no fueron afectados por la falta de tiroides. Este trabajo estudió el VO₂ en mitocondria de músculo de ratas Wistar aclimatadas a 4°C de temperatura y luego hechas hipotiroideas con yodo 131 más metimazol. La mitocondria de los músculos gastrocnemius y biceps femoral se obtuvieron por centrifugación. Resultados: El VO₂ a temperatura ambiente en 8 ratas normales fue de 142 ± 12 ng oxígeno /min/mg proteína (unidades) y en ratas hipotiroideas 50 ± 5 unidades. El VO₂ de ratas normales aclimatadas al frío fue de 192 ± 13 unidades (P<0.001). En ratas hipotiroideas fue de 136 ± 17 unidades, es decir, 2.7 veces mayor que en hipotiroideas a 24°C. El tratamiento con T4 de reemplazo elevó el VO₂ a valores de ratas normales. Al administrar propranolol y prazosin (bloqueadores beta- y alfa-1-adrenérgicos) el VO₂ descendió marcadamente en músculo normal o hipotiroideo y redujo la temperatura corporal a 27°C. Los resultados sugieren que la hormona tiroidea es esencial para que el músculo esquelético inicie la termogénesis de adaptación al frío, pero una vez adaptado, el tejido mantiene un alto grado de termogénesis en ausencia de tiroides y a través de la norepinefrina.

- 294. (455) NUEVA MUTACION EN EL GEN VHL EN FEOCROMOCITOMA FAMILIAR SANSÓ ELSA GABRIELA, GARCIA RUDAZ Cecilia, LEVIN Gloria, BARONTINI Marta.**

CEDIE Centro de Investigaciones Endocrinológicas

Los feocromocitomas (Feo) son en su mayoría esporádicos, sin embargo actualmente, se ha demostrado que más del 20% son hereditarios (neoplasias endocrinas múltiples tipo 2, enfermedad de von Hippel Lindau o neurofibromatosis tipo 1). Aproximadamente el 50% de las mutaciones descritas en VHL, ocurren en el codón 238. Se presenta una familia con feo aislado en la que se encontró una nueva mutación del gen vhl en la línea germinal. Se estudiaron 6 individuos; el caso índice fue un niño de 6a que consultó por sudoración profusa, cefalea y dolor abdominal. Presentaba hipertensión y taquicardia. Los niveles de NA, NMN y AVM urinarios estuvieron francamente elevados. Los estudios por imágenes mostraron una masa en adrenal izq. Luego de la adrenalectomía los síntomas desaparecieron y los niveles de NA se normalizaron. Al año reaparecieron los síntomas y se realizó la adrenalectomía contralateral. Su padre había sido operado a los 12a por feo unilateral y paraganglioma abdominal. La secuenciación del ADN mostró en ambos una mutación puntual en el gen vhl en línea germinal: T701G en el codón 234 que produjo la sustitución leucina por arginina. La mutación no fue identificada en los otros miembros de la familia. Estudios oftalmológicos y radiológicos específicos para

VHL excluyeron otra manifestación asociada. Se describe una nueva mutación en el gen vhl en una familia con feo como única manifestación de la enfermedad. Esta mutación puntual podría representar una variante de VHL.

- 295. (474) CRECIMIENTO DE LA MANDÍBULA Y DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL ESPONTÁNEA (EPE) DE LA RATA. EFECTO DEL ESTADO DIABÉTICO.** GARCIA MARÍA FLORENCIA, MORENO Hilda, PUCHE Rodolfo.

FACULTAD DE MEDICINA - ROSARIO Laboratorio de Biología Osea y Cátedra de Endodoncia. Facultad de Odontología,

En ratas IIMFm, línea "m", el crecimiento en peso y volumen de la mandíbula se ajustan a la función logística. Los puntos de inflexión coinciden en el pico de crecimiento corporal. La concentración de mineral del hueso periodontal sano, medido por densitometría (mg de mineral óseo/mm² de área de proyección), aumenta exponencialmente con valor máximo desde la 6^a. semana (3.52±0.55 mg/mm²). La EPE se manifiesta después del destete por aparición de áreas de reabsorción intrarradiales e interproximales. El número de áreas de reabsorción (5±0.2) y el área total de las mismas (0.63±0.06 mm², 17% del hueso periodontal total) alcanzan el máximo a la 6^a. semana. La densidad mineral de las áreas en reabsorción (1.28±0.14, P<0.001) implica una pérdida mineral de 36%. La diabetes por aloxano, evaluada entre la 6^a. y 12^a. semanas de edad, afecta adversamente el peso corporal pero no el peso y volumen mandibular. La densidad mineral ósea del hueso periodontal diabético (2.4±0.29 mg/mm²) es inferior al control (P<0.001). La densidad mineral de las áreas en reabsorción (1.17±0.14) implica una pérdida mineral de 48%. La densitometría radiológica permite la evaluación del desarrollo de la EPE con ventajas respecto de otras técnicas afectadas por los procesos de erupción dentaria. La diabetes por aloxano reduce la densidad mineral del hueso periodontal. Las áreas de reabsorción tienen una pérdida mineral superior a la de los controles.

- 296. (550) CARACTERÍSTICAS DE LAS ESPECIES INSULINO-SÍMILES (EIS) SECRETADAS POR RATAS ESTIMULADAS CON GLUCOSA, TRATADAS PREVIAMENTE CON FLUORURO DE SODIO (NAF).** MENOYO INÉS, RIGALLI Alfredo, PUCHE Rodolfo.

Facultad de Medicina Laboratorio de Biología Osea, U. N. Rosario

Ratas tratadas con NaF por vía oral (40 µmoles/100 gramos de peso) y estimuladas con glucosa exhiben altas concentraciones plasmáticas de EIS que no guardan relación con la glucemia ni con la concentración de péptido C (resistencia periférica a la insulina?). El objetivo de este trabajo fue investigar las características de las EIS del plasma de ratas tratadas con fluoruro. Ratas no ayunadas recibieron NaF y cuatro horas más tarde (cuando el contenido de fluoruro de los tejidos blandos y el plasma se aproximan a los valores basales) fueron estimuladas con glucosa intraperitoneal. Los controles recibieron solución de NaCl y glucosa. Una hora después de la administración de glucosa se extrajo sangre conservando el plasma. Por aislamiento sobre Sephadex G100, se recuperó 106±19% (n=5) de las EIS de plasmas controles pero sólo el 18±10% (n=5) de las especies contenidas en el plasma de animales tratados (p<0.0001). In vitro a 22-24°C, el plasma de animales controles mantuvo por 48 horas la concentración inicial de EIS. En el plasma de animales tratados, la concentración de EIS decayó siguiendo una cinética de primer orden con una vida media de 15.5 horas. Conclusión: Una fracción de las EIS que se segregan por estímulo con glucosa en animales tratados con NaF es inestable y sin actividad hipoglucemiante. El tratamiento con NaF no produce resistencia periférica a la insulina sino que afectaría el procesamiento de los precursores de insulina en los islotes de Langerhans.

- 297. (700) EFECTOS MUSCULO-ESQUELÉTICOS DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO RECOMBINANTE HUMANA (HC) EN RATAS HIPOFISECTOMIZADAS (HX).** FERRETTI JOSÉ LUIS, FELDMAN Sara, COINTRY Gustavo, LEITE DUARTE María, CAPOZZA Ricardo, SARRIÓ Leandro.

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico, Facultad de Ciencias Médicas, UNR; Universidad Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil

Describimos los efectos osteomusculares de HCh estudiando las diáfisis femorales (pQCT, biomecánica), metáfisis tibiales (histomorfometría dinámica) y gastrocnemios (peso) de ratas intactas (n=9) ó Hx a los 15 días (20), tratadas o no (4) desde 15 días después con 30 ó 150 mUI/d sc de HCh (8, 8) x 45 días. La Hx limitó el desarrollo muscular (-60%) y del área y el momento de inercia (MI) seccionales (-50 y -75%) y la densidad volumétrica (DV) cortical (-17%) femorales, asociado a una menor tasa de aposición mineral y una mayor superficie de osteoide tibial (p<0.01). La HCh neutralizó 20 a 50% de esos cambios con efecto dosis-respuesta. Pese a la baja mineralización, la Hx aumentó 70% la rigidez intrínseca del tejido cortical (módulo elástico E; p<0.001). De todos modos, la rigidez y las resistencias plástica y final (RP, RF) de las diáfisis cayeron 50% (p<0.001). Nuestro índice tomográfico de resistencia = DV x MI, que no captura componentes microestructurales, falló en predecir RF. El tratamiento impidió 1/3 del déficit de rigidez diafisaria, pero no afectó E, RP ni RF. La Hx 1. afectaría el desarrollo osteomuscular y la mineralización ósea; y 2. rigidizaría paradójicamente el material óseo, quizá afectando sus componentes microestructurales, reduciendo la capacidad tisular para oponerse al avance de microcracks (resistencia plástica), y, en consecuencia, RF. Las dosis ensayadas de HCh serían parcialmente efectivas sólo sobre el primer grupo de efectos.

- 298. (724) DIFERENCIAS SEXUALES EN LAS RELACIONES MÚSCULO-HUESO EN CUERPO ENTERO Y MIEMBROS DETERMINADAS POR DENSITOMETRIA (DEXA) EN 3.500 HOMBRES Y MUJERES PRE- Y POST-MENOPAUSICAS NORMALES.** FERRETTI JOSE LUIS, COINTRY Gustavo, CURE CURE Carlos, CURE RAMIREZ Pablo, CAPOZZA Ricardo.

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico, Facultad de Ciencias Médicas, UNR; Univ. Metropolitana de Barranquilla, Colombia

Hemos demostrado que la proporción lineal entre el contenido mineral óseo (CMO, y) y la masa magra (MM, lineal a la muscular, x) del cuerpo entero (DEXA) decrece en el orden: mujeres pre-MP > hombres > mujeres post-MP > niños. Ampliamos ahora ese estudio al cuerpo total y miembros inferiores y superiores (c.t., m.i., m.s.) de 500 hombres, 1500 mujeres pre-MP y 1500 post-MP normales. Los datos de c.t. y de m.i. confirmaron la mayor proporción CMO/MM en mujeres pre-MP (p<0.001), homologando los hombres a las mujeres post-MP. En m.s., en cambio, la proporción CMO/MM decreció en el orden: hombres > mujeres pre-MP > mujeres post-MP (p<0.001). Ajustando logarítmicamente el CMO a la masa grasa, hombres y mujeres pre-MP compartieron la mayor proporción en c.t. y m.i., mientras que en m.s. el orden fue: hombres > mujeres pre-MP > mujeres post-MP (p<0.001). El paralelismo de las curvas tendió a mantenerse. Estos resultados son congruentes con el efecto potenciador estrogénico sobre la respuesta celular ósea al estímulo mecánico. Las hormonas sexuales desviarían el punto de referencia del mecanostato óseo, dificultando la remodelación con balance negativo por desuso. Ese efecto se facilitaría por adición de la gravedad (importante en las mujeres por su mayor masa grasa) en m.i., y resultaría neutralizado y aun revertido en los hombres en m.s., donde su mayor musculatura representa el único estímulo mecánico. Esta es la primera evidencia de este tipo obtenida utilizando DEXA.

- 299. (933) EFECTO DE LA REVERSIÓN TRANSITORIA DE LA HIPERLEPTINEMIA CRÓNICA SOBRE LA FUNCIÓN CORTICOADRENAL EN LA RATA.** PERELLÓ MARIO, CHISARI Andrea, SPINEDI Eduardo.

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular Instituto Multidisciplinario de Biología Celular, La Plata

El tratamiento neonatal con monosodio glutamato (MSG) genera un fenotipo caracterizado por pseudo-obesidad y anomalías metabólicas. Hemos demostrado previamente que ratas adultas

MSG presentan hipercorticosteronemia, hiperleptinemia e insensibilidad adrenal al efecto inhibitorio de leptina (Lep). Con el objetivo de estudiar algunos de los mecanismos involucrados en los trastornos neuroendo-crinológicos del modelo, realizamos enucleación adrenal (EA) en ratas macho adultas, testigo (T) y MSG. A 21 días post-EA se sacrificaron animales EA y SHAM. Los MSG-EA mostraron un descenso (p<0,05 vs. MSG-SHAM) de Lep (12,09+2,56 vs. 31,1+4,92 ng/ml) y corticosterona (B) (3,06+0,33 vs. 6,86+0,62 mg/dl) circulantes; no hubo tales diferencias entre T-EA y T-SHAM. Se evaluó la sensibilidad de células adrenales a Lep, in vitro, observándose que adrenales de T-EA y T-SHAM fueron sensibles al efecto inhibitorio de Lep sobre B liberada post-ACTH; contrariamente, los MSG-SHAM fueron refractarios a la Lep. Interesantemente, los MSG-EA mostraron un descenso (19.15+6.65 %, p<0,05) en la liberación de B post-ACTH en presencia, vs. ausencia, de Lep. Sugerimos que los MSG-EA presentarían cambios en la regeneración adrenal, con disminución de la hiperleptinemia, recuperándose transitoriamente la sensibilidad adrenal a Lep. Concluimos que, en el modelo MSG, la insensibilidad adrenal a la Lep podría ser secundaria ya que la reversión de la hiperleptinemia reinstala leptino sensibilidad adrenal. (PICT5191/99)

- 300. (958) METABOLISMO HIDROSALINO EN PACIENTES CON HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA BAJO TERAPIA SUSTITUTIVA.** ROGOFF DANIELA, LEVÍN Gloria, PUYÓ Ana María, BARONTINI Marta.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas Htal. de Niños R. Gutiérrez, Cat. Biol. Cel. e Hist. Fac. de Farmacia y Bioquímica (UBA), CABA

Se demostró que aún en la forma virilizante simple (VS) de la hiperplasia suprarrenal congénita por bloqueo de 21-HO, existen grados variables de pérdida salina. Otros estudios describieron alteraciones en los niveles de las catecolaminas en la forma perdedora de sal (PS). Nos propusimos evaluar la eficacia del tratamiento sustitutivo en pacientes con HSC en sus distintas formas a través de parámetros clínicos y del estudio del metabolismo hidrosalino y catecolaminérgico. Se compararon pacientes con HSC (PS:7, VS:10; 4-23 a.), adrenalectomizados bilaterales (A; n:5, 7-29 a) y sujetos controles (C; n:8, 8-16 a). No se encontraron diferencias en talla, BMI, TA, ionograma pl y ur, ADH, Osm pl y ur. El ANF fue significativamente mayor en los PS, VS y A que en los C (p<0.05, 0.01 y 0.01). La ARP fue similar en los distintos grupos, mientras que la aldosterona fue menor en los grupos PS y A que en los C y VS (p<0.01). En los VS fue mayor que en los controles (p<0.05). En cuanto a las catecolaminas pl y metabolitos se observó que la A, NA, DOPA y DOPAC fueron mayores en los pacientes A que en los otros grupos (p<0.01 para A y DOPA, p< 0.05 para NA y DOPAC). No hubo diferencias en las catecolaminas urinarias. Los pacientes VS se encuentran compensados en su metabolismo hidroelectrolítico y no requieren sustitución con mineralocorticoides. El aumento del ANF en los distintos grupos reflejaría una alteración sutil en el metabolismo hidrosalino en todos los grupos estudiados.

METABOLISMO Y NUTRICIÓN II

- 301. (676) PROTOPORFIRINA ERITROCITARIA Y RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA EN EL PERIODO POST PARTO.** LANGINI SILVIA H, FLEISCHMAN Silvana, LOPEZ Laura, ORTEGA SOLER Carlos, PITA MARTIN DE PORTELA María.

Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica (Universidad de Buenos Aires) Servicio de Obstetricia, Hospital Diego Paroissien, Pcia de Buenos Aires, Argentina

En el puerperio ocurren cambios fisiológicos, a veces acompañados por procesos infecciosos, que dificultan la evaluación del estado nutricional del hierro (ENFe). Por ello, se estudió la interrelación entre protoporfirina eritrocitaria (PE) y receptor soluble de transferrina (RsT), en el post-parto en 80 mujeres (GT), atendidas en el Hospital D. Paroissien. En sangre venosa, obtenida en las 24 h post-parto, se determinó: Hematocrito (Hto), Hemoglobina

(Hb), recuento de glóbulos rojos (GR) y de glóbulos blancos (GB) (contador electrónico MEGA); PE (Piomelli); en suero: Rst (ELISA, Orion Diagnostica). En un subgrupo (n=31) (G-FS), además, ferritina sérica (FS) (ELISA, Boehringer) y Proteína C-Reactiva (PCR) (BioSystems). En GT los valores (X±DE y rangos) fueron: Hto (%) 35±5 (23-49); Hb (g/dL) 11.3±1.8 (6.5-15.0); GRx10³/mm³ 3912±496 (2510-5000); GB/mm³ 9584±2673 (3700-16900); PE (µg/dL GR) 46±38 (14-300); Rst (mg/L) 5.6±3.3 (1.1-11.0); en G-FS: PCR, positiva en todas ellas y FS (µg/L) 18±18 (0-60), además, el porcentaje de mujeres con Hb<11 g/dL fue 39 % y 50% presentaron FS>10 µg/L, no observándose correlación entre FS y Rst ó PE. En GT, la PE (µg/dL GR y µg/g Hb) correlacionó con el Rst (r=0.32, p=0.0067 y r=0.35, p=0.0035, respectivamente). Estos resultados sugieren la utilidad de la PE para evaluar el ENFe en el post-parto inmediato, cuando la FS aumenta debido a procesos inflamatorios ó infecciosos, pero que no afectan los valores del Rst. Subsidio B-009, UBA.

302. (728) INTERACCIÓN DE LA DIÁLISIS CRÓNICA CON LA PROPORCIÓN ANTROPOMÉTRICA MÚSCULO-HUESO EN HOMBRES Y MUJERES. CORRELACIÓN CON LA PTH SÉRICA. FERRETTI JOSE LUIS, NEGRI Armando, GUSTAVO Cointry, CAPOZZA Ricardo, ZANCHETTA José.

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico, Facultad de Ciencias Médicas, UNR; Facultad de Medicina, Universidad del Salvador, Buenos Aires

Proponiendo que el trastorno sistémico dialítico afecta el control biomecánico de las proporciones musculoesqueléticas, analizamos las masas densitométricas mineral y magra (MM, LM; DEXA) de 45 hombres, 28 mujeres premenopáusicas (pre-MP) y 47 mujeres post-MP, dializados peritoneales (DP) o hemodializados (HD) estables de 24-74 años, y de 600 controles etarios. De acuerdo con esa hipótesis, todos los dializados mostraron menor MM, y percentilos bajos (medias grupales = 25-36) para la relación lineal de referencia entre MM (y) y LM (x), aunque 25-35 % mayores para las mujeres pre-MP que para los demás. Hombres y mujeres pre-MP mostraron pendientes MM/LM similares al control, pero las post-MP mostraron una caída más acentuada de percentilos para valores bajos de LM. Los percentilos correlacionaron negativamente con la PTH sérica (mayor en HD que en DP, p<0.001) en hombres y mujeres post-MP (p<0.01), pero no en las pre-MP. En hombres y mujeres pre-MP dializados subsiste el control natural de la estructura (y secundariamente la masa) ósea por la fuerza (masa) muscular regional; pero la interferencia sistémica dialítica reduce la proporcionalidad MM/LM. Luego de la MP, el balance de masa ósea empeora en mayor proporción con el desuso mecánico del esqueleto. El hiperparatiroidismo secundario dialítico desplazaría el punto de referencia del "mecanostato" óseo (deformación ósea constante frente a cargas fisiológicas máximas), especialmente en ausencia de estrógenos.

303. (928) POTENCIAL SUBESTIMACIÓN DE ESTADOS DÉFICITARIOS MARGINALES DE ZINC UTILIZANDO VALORES DE REFERENCIA. EIROA HERNAN DIEGO, GIL Verónica, PIÑEIRO Adriana, GISONE Pablo, CAMBIANO Carlos.

Primera Cátedra de Pediatría Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Medicina, Cátedra de Toxicología y Química Legal. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

Dado que se ha acentuado el interés en la detección de estados deficitarios marginales de Zinc (Zn), el presente trabajo se propuso determinar valores de Zn plasmático (Zn pl) en una población pediátrica. Se enrolaron 53 pacientes con una media (x) de edad de 24,7 +/- 9,6 meses; 14 con antecedentes respiratorios (P) y 39 fueron considerados sanos (S). El Zn plasmático se determinó utilizando un espectrómetro de Absorción Atómica a una longitud de 213,9 nm. Los percentilos 3,10,25,50,75 y 90 fueron para P= 0,90, 1,04, 1,15, 1,33, 1,46, 1,71 y para S= 0,93, 1,12, 1,29, 1,41, 1,51, 1,76. Para la población global el x de Zn fue de 1,34 +/- 0,24 µg/ml. La población P presentó un x= 1,13 +/- 0,14 µg/ml y la S= 1,41 +/- 0,16 µg/ml (p<0,05). Las variables peso de nacimiento (PN), scores Z de peso, Talla, peso/talla y consumo diario de Zn no presentaron correlaciones significativas con los valores de Zn pl en

ambos grupos. Este estudio provee los primeros valores de referencia proveniente de nuestro medio. El desplazamiento de la curva hacia la derecha podría enmascarar cuadros de "desnutrición oculta". Se verificó una diferencia significativa entre los valores de Zn en los grupos P y S. Tomando el percentilo 10 de nuestros valores, el 23% de la población total se encontraría por debajo del punto de corte de hipozinquemia. Se postula que la velocidad de crecimiento sería un indicador más sensible para el análisis de hipozinquemias marginales.

304. (1006) LDL DENSA (LDLd) Y SU RELACION CON PARAMETROS DE RIESGO CARDIOVASCULAR. MUZZIO MARÍA LUZ, BERG Gabriela, LOPEZ Graciela, BRITES Fernando, WIKINSKI Regina, SCHREIER Laura.

Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

LDLd es un subtipo de LDL de menor tamaño y mayor aterogenicidad, aún no existe un método universalmente aceptado para su medida. Se propone separarla por ultracentrifugación (d=1048-1063g/ml) calculando su proporción con respecto a LDL total (1020-1063). Objetivo: evaluar si LDLd se asocia con parámetros ligados a riesgo cardiovascular y en especial si tiene relación con la concentración plasmática de colesterol(c)-LDL. En suero en ayunas de 50 mujeres sanas (23 a 60años), sin tratamiento hormonal, se determinó insulina, glucosa, c-LDL, c-HDL, triglicéridos (TG), apoB, apoAI, TG-LDL, TG-HDL, y lipasa hepática (LH) en plasma postheparínico. Se midió peso, altura, cintura y cadera. Se calculó BMI, HOMA, cintura/cadera. La media±SD de LDLd fue 20.6±7.1%. LDLd correlacionó positivamente con: BMI (r=0.381 p<0.01), cintura (r=0.350 p<0.01), cintura/cadera (0.356 p<0.01), glucosa (r=0.363 p<0.01), insulina (r=0.389 p<0.01), HOMA (r=0.448 p<0.01), TG (r=0.434 p<0.001), TG-LDL (r=0.489 p<0.001), LH (r=0.360 p<0.01), TG-HDL (r=0.422 p<0.01). Se encontró correlación inversa con c-HDL (r=-0.423 p<0.01) y apoAI (r=-0.328 p<0.05). LDLd no correlacionó con c-LDL (r=0.126 p=ns), apoB (r=0.054 p=ns) ni edad (r=0.152 p=ns). LDLd se asoció con todos los parámetros de insulina resistencia. Correlaciones con LH, TG-LDL y TG-HDL explicarían la formación de LDLd. La falta de correlación con c-LDL, indicaría que el predominio de LDLd ocurriría aún con c-LDL dentro de su rango normal

305. (1008) EFECTO PROTECTOR DE HDL SOBRE LA OXIDACION DE LDL EN LA POSTMENOPAUSIA. ZAGO VALERIA, SANGUINETTI Silvia, BRITES Fernando, BERG Gabriela, BASILIO Francisco, WIKINSKI Regina, SCHREIER Laura.

Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas Facultad de Farmacia y Bioquímica- UBA. Centro de Ginecología y Reproducción-CEGYR. Buenos Aires.

Modificaciones oxidativas de HDL afectarían su papel antioxidante atribuible en parte a la enzima paraoxonasa (PON). Esta función de HDL aún no ha sido estudiada en la postmenopausia, etapa en la cual el descenso de estrógenos se asocia con mayor estrés oxidativo. Objetivo: Evaluar el efecto protector de HDL sobre la oxidación de LDL de mujeres pre (PreM) y postmenopáusicas (PM) y relacionarlo con la oxidabilidad de HDL. Se estudiaron 22 Pre M (23 a 46 años) y 22 PM (47 a 71), sin tratamiento hormonal, antioxidante ni hipolipemiente. Se aislaron HDL y LDL por ultracentrifugación, se provocó la oxidación con Cu²⁺ de cada lipoproteína y de la mezcla HDL+LDL. Se midió la absorbancia 234nm y se calculó tiempo-lag (T-lag) y el porcentaje de inhibición de oxidación de LDL en presencia de HDL (%I). Se midió actividad PON. El %I en PM fue menor que en preM: 9.6±2.0 % vs 17.6±2.3, p<0.01. T-lag HDL fue menor en PM que en PreM: 15.4±1.5 min vs 22.3±1.7 p<0.01. T-lag LDL y PON no difirieron entre grupos. %I correlacionó con T-lag HDL r=0.42, p<0.005, en cambio no correlacionó con PON, r=0.1, p=0.56. En PM, HDL fue menos eficiente en la protección de LDL, asociado a una menor resistencia de HDL a la oxidación y no a la actividad PON. Esto contribuiría al aumento de riesgo cardiovascular relacionado a la postmenopausia.

- 306. (1138) EFECTO DE ACIDO URICO SOBRE LA OXIDACION DE LDL MEDIADA POR COBRE. INTERACCION CON OXIDO NITRICO.** SANGUINETTI SILVIA, BATTYANY Carlos, LOPEZ Graciela, WIKINSKI Regina, SCHREIER Laura.

Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Dep. Bioquímica Clínica, Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA y Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

La oxidación de LDL depende en parte de la acción de antioxidantes (AOX) propios y del plasma. Existen evidencias de que algunos AOX podrían actuar como prooxidantes. Acido urico (U) se encuentra en alta concentración en subendotelio, espacio donde se oxida LDL y donde podría interactuar con moléculas como óxido nítrico (NO((.))). Objetivo: Evaluar: a) si el U puede actuar como prooxidante cuando LDL se oxida con Cu²⁺ por estimulación de reducción de Cu²⁺ a Cu⁺; b) si NO((.))) modifica la acción de U. Se aisló LDL y se provocó la oxidación con Cu²⁺ por triplicado, a diferentes relaciones molares Cu²⁺/LDL (12.5-100), en presencia de U (0-175 μM), midiendo formación de dienos conjugados a 234 nm y calculando tiempo-lag (T). Se repitieron los experimentos en presencia de 0-10 μM NOC-12, dador de NO((.))). Se midió formación de Cu⁺ durante oxidación de LDL con Cu²⁺ y U. Con Cu²⁺/LDL=25 y U=0-10 μM, T disminuyó de 125 a 40 min, en cambio con U=100-175 μM, aumentó de 200 a 480 min. Con otras relaciones Cu²⁺/LDL también se observó disminución de T a bajas concentraciones de U. Con Cu²⁺/LDL=25 y U=0-10 μM, aumentó 250% la formación de Cu⁺, lo que correlacionó con disminución de T, r = -0.92, p < 0.01. En ausencia de U, NOC 12 aumentó T pero en presencia de U el aumento fue menor. A bajas dosis, U mostró efecto prooxidante sobre LDL asociado a su capacidad reductora de Cu²⁺. Si bien NO((.))) presentó efecto neto antioxidante sobre LDL oxidada con Cu²⁺ y U, no inhibió el efecto oxidante de U.

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES II

- 307. (479) EFECTO DE ACTH SOBRE LA DISTRIBUCIÓN SUBCELULAR Y FOSFORILACIÓN DE CAVEOLINA-1 EN LA LÍNEA TUMORAL ADRENOCORTICAL Y1.** COLONNA CECILIA, PODESTA Ernesto.

Departamento Bioquímica Humana - Facultad de Medicina - UBA

La caveolina-1 es la proteína estructural de la caveola, y regula mediante mecanismos de fosforilación y distribución subcelular el transporte de colesterol y el camino de señalización de varios procesos. Las células Y1 responden a ACTH vía AMPc produciendo el denominado "rounding up" o redondeo, postulándose como mecanismo necesario para la esteroidogénesis. El objetivo de este trabajo fue estudiar la regulación en la fosforilación y distribución subcelular de caveolina-1 por ACTH en células Y1. ACTH induce la traslocación de caveolina-1 de organelas intracelulares a la membrana celular, observado por inmunocitoquímica y western blot, observándose un aumento de 2,5 veces, tiempo dependiente, en la fracción insoluble en tritón (FIT) con una consecuente disminución en la fracción soluble en tritón (FST). Por inmunofluorescencia se observó que la distribución de caveolina-1 en la membrana se corresponde con el redondeo característico de estas células en respuesta a ACTH. Se evaluó el efecto de ACTH sobre la fosforilación en tirosina de caveolina por inmunoblot e inmunocitoquímica, utilizando un anticuerpo anti-fosfo-caveolina-1, observándose un incremento de 1,5 veces en la cantidad de fosfo-caveolina-1 en el homogenato y en la FIT. Estos resultados se verificaron por electroforesis bidimensional. Los resultados muestran por primera vez que ACTH regula la fosforilación en tirosina de caveolina-1, produciendo un cambio en la distribución subcelular que acompaña el redondeo celular.

- 308. (489) PARTICIPACIÓN DE ERBB-3 EN LA ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL RECEPTOR DE PROGESTERONA (PR) POR HEREGULINA (HRG) EN CÉLULAS DE CARCINOMA MAMARIO MURINO C4HD Y EN CÉLULAS HUMANAS T47D.** PROIETTI CECILIA, SALATINO Mariana, LABRIOLA Leticia, SCHILLACI

Roxana, CARNEVALE Romina, CHARREAU Eduardo, ELIZALDE Patricia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental

Demostramos previamente que HRG, ligando de los receptores con actividad de tirosina quinasa tipo I (RTKs-I), es capaz de transactivar al PR humano y murino por un mecanismo que requiere ErbB-2 funcional y la activación de MAPK (Proc Am Assoc Cancer Res 42:237, 2001). Tanto en ensayos de "DNA mobility shift" como en ensayos de transfección transiente con un plásmido (PRE)[[2]]-tk-CAT, el bloqueo de la unión de HRG al ErbB-3, mediante el uso del anticuerpo bloqueante Ab-5, resultó en la inhibición de la capacidad de HRG de inducir la unión de PR a un PRE y de inducir la transcripción de CAT. En cambio, el bloqueo de la unión a ErbB-4 no afectó estos efectos de HRG. Anteriormente mostramos que las MAPK son capaces de fosforilar in vitro al PR humano y murino. Estudiamos ahora la capacidad de MAPK de fosforilar el residuo Ser 294 (un sitio consenso de MAPK) del PR, que ha sido involucrado en el "cross-talk" entre activación ligando-dependiente e independiente del PR. Mediante un ensayo de fosforilación in vitro en el cual se usó 100 μM ATP frío en vez de gamma[[32]]P]ATP, encontramos que MAPK inmunoprecipitadas de células C4HD y T47D tratadas con HRG son capaces de inducir la fosforilación de Ser 294 del PR, detectada por western blot con un anticuerpo anti fosfo-Ser 294. Nuestros resultados indican que ErbB-2/ErbB-3 es el heterodímero funcional en la activación del PR por HRG. Hemos demostrado además por primera vez que MAPK son capaces de fosforilar al residuo Ser294 del PR in vitro.

- 309. (787) MECANISMOS DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES DE PKA COOPERAN EN LA INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN DE LA MAP KINASA FOSFATASA-1 (MKP-1) POR ACTH EN CÉLULAS ADRENOCORTICALES DE LA LÍNEA Y1.** BEY PAULA, GOROSTIZAGA Alejandra, MALOBERTI Paula, CASTILLA LOZANO Rocío, PODEROSO Cecilia, CORNEJO MACIEL Fabiana, PODESTÁ Ernesto, PAZ Cristina.

Laboratorio HRDC. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires.

El mecanismo de acción de ACTH incluye la desfosforilación de proteínas por fosfatasa dependientes de ACTH. El objetivo de este trabajo fue determinar si la MAP quinasa fosfatasa-1 (MKP-1), una fosfatasa de especificidad dual involucrada en la inactivación de MAP quinasas, integra el mecanismo de acción de ACTH. Mediante Western y Northern blot analizamos los niveles de la proteína y del ARNm de MKP-1 en células de la línea Y1. ACTH incrementó transitoriamente los niveles de la proteína y del mensajero. El efecto sobre el mensajero fue dependiente de la concentración y alcanzó el máximo valor a la hora de estimulación (ACTH 25 mUI/ml = 6,20 ± 0,31 vs. Control = 1,10 ± 0,10 unidades arbitrarias, P < 0,001). Actinomicina D anuló el efecto de ACTH indicando una acción hormonal a nivel transcripcional. El 8Br-AMPC también aumentó los niveles del ARNm, con una cinética similar a ACTH pero con menor potencia (4-veces). Inhibidores de PKC (Ro-31-8220) y PKA (H-89) redujeron el efecto de ACTH. H-89 bloqueó el efecto del 8Br-AMPC pero redujo sólo parcialmente el de ACTH. El incremento de calcio intracelular y la activación de PKC sin tener efecto per se potenciaron el efecto de ACTH y de 8Br-AMPC, sugiriendo el rol fundamental de PKA en la inducción de MKP-1 por ACTH. Estos resultados indican que la MKP-1 es un componente adicional del mecanismo de acción de ACTH y sugieren además que mecanismos dependientes e independientes de PKA cooperan en la regulación de MKP-1 por ACTH.

- 310. (816) REGULACIÓN FÓTICA DE LA ACTIVIDAD DE HEMO OXIGENASA EN LA RETINA DEL HÁMSTER DORADO.** SACCA GERALDINE, SAENZ Daniel, MINCES Luciana, KELLER SARMIENTO María Inés, ROSENSTEIN Ruth.

Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, U.B.A.

La hemo oxigenasa (HO) cataliza la conversión de hemo en CO, Fe y biliverdina, que luego es convertida a bilirrubina por la biliverdina reductasa. El CO es un conocido activador de una guanilato ciclasa

soluble y por lo tanto aumenta los niveles de GMPc. Dado que el GMPc es un mensajero clave en el mecanismo de fototransducción, el objetivo de este trabajo fue caracterizar la actividad de HO en la retina del hámster. Se cuantificó la actividad de HO a través de la conversión de hemina en bilirrubina. Este parámetro fue significativamente mayor a mediodía que a medianoche (810 ± 74 y 484 ± 37 pmol/mg de prot.hora, respectivamente). Cuando los animales se expusieron a oscuridad constante por 48 h estas diferencias desaparecieron. No se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de la proteína. La dopamina aumentó significativamente la actividad enzimática tanto a mediodía como a medianoche en forma dosis-dependiente a través de un receptor de tipo D1 (12 hs: control: 932 ± 65 , dopamina 1413 ± 93 , 24 hs: 450 ± 20 ; dopamina: 700 ± 30). Este efecto fue reproducido por análogos permeables de AMPc. Un inhibidor de la HO disminuyó la acumulación retiniana de GMPc con mayor sensibilidad durante la noche. La bilirrubina inhibió significativamente la peroxidación lipídica retiniana a mediodía y a medianoche. Estos resultados indican que la actividad de HO retiniana está regulada por el estímulo fótico, presumiblemente a través de un mecanismo dependiente de dopamina.

- 311. (956) ARTIST, UNA ACIL-COA TIOESTERASA MITOCONDRIAL, INTERMEDIARIA OBLIGATORIA EN LA SÍNTESIS DE ESTEROIDES ES REGULADA POR ACTH.** CASTILLA LOZANO ROCIO, MALOBERTI Paula, MELE Pablo, COLONNA Cecilia, MENDEZ Carlos, PAZ Cristina, PODESTÁ Ernesto.

Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Buenos Aires

Previamente hemos demostrado que una acil-CoA tioesterasa mitocondrial (ARTIST) es obligatoria en la regulación hormonal de la esteroidogénesis. La actividad de ARTIST, es regulada por fosforilación y medida por su capacidad para estimular la esteroidogénesis en un bioensayo, postulándose que ARTIST libera ácido araquidónico (AA) directa o indirectamente por acción de ACTH. El objetivo del presente trabajo fue demostrar que ACTH regula la actividad enzimática de ARTIST. Para ello se aislaron mitocondrias de células Y1 incubadas en ausencia o en presencia de ACTH por 5 y 30 minutos. La actividad enzimática se ensayó utilizando como sustrato araquidonil-CoA y midiendo el AA liberado. ACTH (5 mIU/ml) incrementa 1.8 veces (desde 1.59 ± 0.22 a 3.0 ± 0.25) la actividad de ARTIST a los 5 minutos. La activación de la enzima protege a la misma de la inhibición por ácido Nordihidroguaiaretico (NDGA) inhibidor de la esteroidogénesis. ARTIST clonada y expresada tiene un Km de 2 μ M utilizando araquidonil-CoA como sustrato. Anticuerpos obtenidos contra la enzima expresada en bacteria detecta ARTIST en células Y1 y en adrenales. Estos resultados demuestran por primera vez que ACTH puede regular la actividad enzimática de una acil-CoA tioesterasa.

- 312. (1140) ACCIÓN OBLIGATORIA DE PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASAS (PTPS) EN LA REGULACIÓN DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA STAR Y DE LA ESTEROIDOGÉNESIS POR ACTH.** PODEROSO CECILIA, CORNEJO MACIEL Fabiana, GOROSTIZAGA Alejandra, BEY Paula, PAZ Cristina, JEFEOATE Colin, PODESTÁ Ernesto.

Depto. de Bioquímica. Fac. de Medicina. UBA. Dept. of Pharmacology. University of Wisconsin. USA.

Uno de los eventos requeridos para la estimulación hormonal de la síntesis de esteroides es la inducción de la proteína StAR, la cual incrementa el transporte de colesterol a la mitocondria. Estudios previos de nuestro laboratorio demuestran que la estimulación hormonal incrementa la actividad de proteína tirosina fosfatasa (PTPs) por mecanismos dependientes de la PKA en células adrenocorticales y de Leydig y que el óxido de fenilarsina (PAO), un inhibidor de PTPs, inhibe la expresión de StAR y la síntesis de esteroides en células de Leydig. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto del PAO y del ácido benzil fosfónico, BPA, sobre el promotor, la expresión de StAR y la esteroidogénesis en células adrenocorticales Y1. PAO (2,5 μ M) y BPA (0,75 mM) redujeron tanto los niveles de la proteína StAR, evaluados por Western blot, como la síntesis de esteroides, analizada por radioinmunoanálisis, ante el estímulo con ACTH (25 mUI/ml): ACTH+PAO= 145 ± 15 y ACTH+BPA= 42 ± 8 vs. ACTH= 318

± 30 ng de progesterona/ml $P < 0,001$, (media \pm SD). Además, tanto PAO como BPA reducen la acción del 8Br-AMPc sobre la actividad del promotor de StAR, utilizando luciferasa como gen reporter (control= $3,5 \pm 0,5$, 8Br-AMPc= $11,9 \pm 0,3$, 8Br-AMPc+BPA(0,2 mM)= $3,9 \pm 0,2$ UA, media \pm SD). Estos resultados, obtenidos utilizando dos compuestos capaces de inhibir la actividad de PTPs mediante distintos mecanismos, demuestran el efecto de PTPs sobre la expresión de StAR y su rol obligatorio en la esteroidogénesis.

INMUNOLOGÍA VII

- 313. (444) CITOQUINAS TH1/TH2 EN MUJERES EMBARAZADAS CRÓNICAMENTE INFECTADAS CON TRYPANOSOMA CRUZI.** CARDONI RITA LILIANA, MARTIN GARCIA Miriam, DE RISSIO Ana María.

ANLIS Instituto Nacional de Parasitología "Dr. M. Fatale Chabén", Buenos Aires

El balance de citoquinas Th1/Th2 que canaliza la respuesta a infecciones, se evaluó, durante el embarazo, en mujeres infectadas con T. cruzi, residentes en área no endémica. Se determinaron los niveles séricos de IFN-gama (Th1) e IL-10 (Th2) así como de TNF-alfa (inflamatoria). Los datos fueron comparados con los de embarazadas no-infectadas, así como de mujeres no embarazadas, infectadas o no con T. cruzi (16-20 casos/grupo). Los niveles de IL-10 en las mujeres sólo embarazadas (38 ± 7 pg/ml) o sólo infectadas (38 ± 10 pg/ml) fueron mayores ($p < 0.05$) que en aquellas no embarazadas ni infectadas (18 ± 4 pg/ml). Sin embargo, en las mujeres embarazadas e infectadas no incrementaron significativamente los niveles de IL-10 (27 ± 6 pg/ml), que fueron además similares en las embarazadas en que ocurrió o no la transmisión madre-hijo del parásito. Los niveles de TNF-alfa no se modificaron en las mujeres sólo embarazadas, pero tuvieron una tendencia a incrementar en las infectadas. Esta tendencia fue notoria en las madres de bebés no infectados, sugiriendo la posibilidad de encontrar una relación entre la producción de citoquinas y la transmisión vertical. Los niveles circulantes de IFN-gama no incrementaron en los grupos estudiados indicando que los niveles de esta citoquina proinflamatoria son controlados en las embarazadas crónicamente infectadas con T. cruzi a pesar de no incrementar la IL-10, como en las mujeres sólo infectadas o sólo embarazadas.

- 314. (511) PRESENCIA DE CARDIOPATIA Y NIVELES DE AUTOANTI-CUERPOS ANTISULFOCEREBROSIDOS EN PERSONAS SERO-POSITIVAS PARA TRYPANOSOMA CRUZI SIN O CON OTROS FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE DAÑO CARDIACO.** DIEZ CRISTINA, BELOSCAR Juan, PELLIZZÓN Oscar, FELDMAN Sara, MARIANI Enrique, BOTTASSO Oscar.

Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario

Se investigó si la existencia de FR (implicados en el desarrollo de daño cardíaco como tabaquismo, alcoholismo e hipertensión arterial) en personas seropositivas para T. cruzi guardaba relación con la presencia de cardiopatía y niveles de autoanticuerpos que podrían estar implicados en la fisiopatogénesis de la enfermedad, como los anti-sulfocerebrósidos. Se estudiaron 120 personas provenientes de áreas endémicas que de acuerdo a la clínica y serología se separaron en 4 grupos: positivos sin FR (PosFR-, n=29) y positivos con FR (PosFR+, n=42), serología negativa sin FR (NegFR-, n=17) y con FR (NegFR+, n=32); sin mayores diferencias en edad 50 ± 13 años (media \pm DS). Las inmunoglobulinas G anti-sulfocerebrósidos se estudiaron por ELISA. Los resultados (DO, media \pm ES) fueron: NegFR+ 44.4 ± 8 , NegFR- 34.5 ± 5.6 , PosFR+ 143.1 ± 24.6 , PosFR- $88.3 \pm 22^*$ (*diferente de PosFR+, $p < 0.005$ y seronegativos $p < 0.01$). Dentro de los seropositivos los valores según el grado de cardiopatía (electrocardiograma, ecografía y Rx de tórax) fueron, grado 1 (normal): 68.6 ± 8.2 , n=25; grado 2 (leve-moderada): 137 ± 28.7 , n=32; grado 3 (severa): 173 ± 53 , n=14 (1 vs resto, $p < 0.05$). A su vez, la existencia de afectación cardíaca mostró una tendencia a ser más prevalente en los PosFR+ respecto de PosFR- ($p = 0.05$). El aumento en los niveles de autoanticuerpos que mues-

tran los seropositivos se hace más notorio aún en los PosFR+. Ello a su vez coincide con una mayor presencia de cardiopatía.

- 315. (575) INHIBICIÓN POR MONOCITOS DE LA CITOTOXICIDAD NATURAL KILLER (CXNK) EN TUBERCULOSIS PULMONAR (TB) ACTIVA.** DE LA BARRERA SILVIA, ALEMÁN Mercedes, (2) GARCÍA Ana, FINK Susana, FRANCO Clara, (2) ABBATE Eduardo, SASIAIN María.

IHHema.Academia Nacional de Medicina (2)Servicio de Neumonología. Hospital Muñiz.

Poco se sabe de los estímulos requeridos para la activación de las células NK. Se considera que los monocitos (M) y las citoquinas producidas por los M modularían la CxNK. Habíamos demostrado una baja CxNK con un alto valor de células CD56+ en TB, sugiriendo una inhibición de CxNK. El objetivo fue analizar el papel de M en la activación de CxNK por Mtb. Se estudiaron 10 pacientes y 7 normales (N). Células mononucleares totales (CM) o deplecionadas de M-CD14+ (CM-14), incubadas con Mtb durante 18 hr o 7 días, en presencia o no de IL-10 o anti-IL-10 se usaron como efectoras del ensayo citotóxico contra células Cr51-K562, expresándose los resultados como % de Cx ($x \pm ES$). En TB, en ausencia de M-CD14+, se observó un aumento de CxNK tanto en CM control (c) (TB: 18 hr, CM= 26 ± 3 , CM-14= $34 \pm 2^*$; 7 d, CM= 12 ± 2 , CM-14= $34 \pm 5^*$) como estimuladas por Mtb (TB: 18 hr, CM= 18 ± 3 , CM-14= $38 \pm 3^*$; 7 d, CM= 25 ± 3 , CM-14= $49 \pm 5^*$), sugiriendo un efecto inhibitorio de M sobre la CxNK desde etapas tempranas del cultivo. La depleción de CD14+ no modificó la CxNK en CMc o Mtb de N a 18hr y 7d. La IL-10 inhibió la CxNK de N (18 hr, CMc= 40 ± 2 , +IL-10= $20 \pm 6^*$, Mtb= 38 ± 3 , +IL-10= $26 \pm 6^*$; 7d, CMc= 21 ± 2 , +IL-10= $13 \pm 4^*$, Mtb= 50 ± 5 , +IL-10= $39 \pm 5^*$) y su neutralización aumentó la actividad lítica en TB (18 hr, c= 33 ± 4 , Mtb= $38 \pm 6^*$; 7d, c= $26 \pm 3^*$, Mtb= $49 \pm 6^*$). (* $p < 0.05$). Los monocitos CD14+ serían responsables de la inhibición de CxNK observada en TB, posiblemente a través de IL-10, modulando así tanto la respuesta inmune adaptativa como innata.

- 316. (656) EL LIPOPOLISACÁRIDO (LPS) DE BRUCELLA ABORTUS INHIBE LA PRODUCCIÓN DE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS INDUCIDA POR DIFERENTES COMPONENTES MICROBIANOS.** GAMBA GISELA, DRAN Graciela, FOSSATI Carlos A., GIAMBARTOLOMEI Guillermo H.

Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET/UBA) Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de Clínicas. UBA. Instituto de Leucemia Experimental-CONICET

El LPS de Brucella abortus es relativamente inerte comparado con el de Escherichia coli, a pesar de ser estructuralmente semejante. En base a esto decidimos analizar si el LPS de B. abortus podría actuar como un inhibidor de diferentes estímulos inflamatorios. Para ello, células humanas THP-1 o macrófagos peritoneales de ratones Balb/c fueron preincubados con diferentes concentraciones de LPS de B. abortus y luego estimulados con LPS de E. coli o lipoproteína A de Borrelia burgdorferi (L-OspA) durante 24 hs. Luego del cultivo se evaluó mediante ELISA la producción de IL-6 y TNF- α . El LPS de B. abortus inhibió la producción de IL-6 y TNF- α inducida por el LPS de E. coli o L-OspA. Este efecto fue dosis, temperatura y tiempo dependiente. La mayor inhibición ocurrió cuando el antagonista fue agregado 1 h previo al estímulo proinflamatorio en una concentración de 100 ng/ml y a 37°C. No se obtuvo inhibición al estimular células con IFN- γ . La estimulación de macrófagos peritoneales con taxol (un LPS mimético que activa macrófagos murinos vía TLR4, sin necesidad de CD14) no fue inhibida por el LPS de B. abortus. Nuestros resultados demuestran que el LPS de B. abortus es un inhibidor de la actividad inflamatoria desencadenada por diferentes componentes microbianos. El hecho de que inhiba la actividad proinflamatoria del LPS de E. coli y de L-OspA y no la desencadenada por taxol sugiere que en este sistema la inhibición del LPS de B. abortus ocurre a nivel de CD14.

- 317. (802) EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE MICA EN SUPERFICIE DE MELANOMAS HUMANOS Y CONTRIBUCIÓN A LA CITOTOXICIDAD POR CÉLULAS NK.** FUERTES MERCEDES, MOLINERO Luciana, FAINBOIM Leonardo, RABINOVICH Gabriel, ZWIRNER Norberto.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UBA

MICA es una molécula de membrana de expresión restringida y regulada por estrés o infecciones. Diversas células tumorales expresan MICA. Su reconocimiento gatilla la citotoxicidad de linfocitos T gd, linfocitos T CD8 y células NK que expresan su ligando, el receptor NKG2D. Esto constituye un mecanismo de eliminación de células en distrés o neotransformadas. Con el objetivo de investigar el papel de MICA como activador de citotoxicidad contra células de diferentes melanomas, produjimos el AcMo D7 (IgG2b) por inmunización de ratones BALB/c con MICA recombinante soluble. Este AcMo reconoce la proteína nativa en superficie celular y bloquea la citotoxicidad de células NK de sangre periférica. Aunque por Western Blot demostramos que 5 melanomas analizados poseen importantes depósitos intracelulares de MICA, por citometría de flujo observamos diferencias en la expresión de esta molécula. M8, MEL-888 y SKmel, pero no IIB-Mel-LES ni A375, poseen MICA en superficie. Por ensayos de liberación de (51)Cr observamos que la incubación de las células blanco con D7 sólo bloqueó la citotoxicidad de células NK de sangre periférica sobre los melanomas que expresan MICA en superficie ($50,2 \pm 6,2$ % de bloqueo). Esta expresión diferencial en distintos melanomas permitiría modular la susceptibilidad a la respuesta citotóxica mediada por células NK a través de NKG2D. La supresión de la expresión de MICA en membrana podría constituir un nuevo mecanismo de escape de la respuesta inmune antitumoral.

- 318. (1033) CÉLULAS DE MELANOMA EVADEN LA VIGILANCIA INMUNOLÓGICA A TRAVÉS DE LA SECRECIÓN DE GALECTINA-1** RUBINSTEIN NATALIA, ALVAREZ Mariano, ZWIRNER Norberto, TOSCANO Marta a, MORDOH Jose, FAINBOIM Leonardo, PODHAJECER Osvaldo, RABINOVICH Gabriel.

Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Facultad de Medicina. UBA; Instituto "Federico Leloir", Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

Recientemente hemos demostrado que galectina-1 (Gal-1) es uno de los principales factores inmunosupresores producidos por células de melanoma. En el presente estudio investigamos mediante estrategias de terapia génica antisentido, en un modelo de melanoma murino, la posibilidad de que células tumorales secreten Gal-1 con el fin de eludir la vigilancia inmuno-lógica. Células de melanoma B16/F0 (8 clones) transfectadas con Gal-1 en su orientación antisentido (pCDNA6-Lag-1) o el vector control (pCDNA6) fueron inoculadas en ratones C57BL (n=12, por grupo; 2×10^5 cél/animal). Se observó una inhibición marcada del crecimiento tumoral en aquellos animales que recibieron células transfectadas con pCDNA6-Lag-1 respecto a los que recibieron células transfectadas con pCDNA6 ($p < 0.001$ clon 5; $p < 0.01$ otros clones). La reducción en los niveles de Gal-1 se vio reflejada por el incremento de la sobrevivencia de los animales tratados con el vector antisentido. La transfección con pCDNA6-Lag-1 no modificó la tasa de proliferación de células de melanoma en cultivo, demostrando que el mecanismo involucrado no afecta las propiedades intrínsecas de células tumorales. Estudios in vitro e in vivo demostraron la apoptosis de células T CD4 y CD8 en el fenómeno de escape tumoral observado. A partir de los resultados expuestos planteamos un modelo en el cual Gal-1 producida por células de melanoma inhibe la respuesta inflamatoria en la interfase tumor-leucocito escapando del reconocimiento inmunológico.

- 319. (1048) ESTUDIO CINÉTICO E HISTOPATOLÓGICO DE LA COLONIZACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL POR CANDIDA ALBICANS.** CORREA SILVIA GRACIELA, AGUERO Natalia, CEJAS Hugo, RIERA Clelia, SOTOMAYOR Claudia.

Inmunología. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. UNC; Hospital Misericordia

Un elevado porcentaje de las candidiasis sistémicas deriva en invasión del sistema nervioso central (SNC) por C. albicans, procesos que suelen no diagnosticarse por falta de manifestaciones clínicas. Para caracterizar la interacción entre el hongo y el microambiente neural infectamos por vía endovenosa ratas Wistar

con 2,5, 5, 10 y 20 x 10⁶ levaduras viables y evaluamos la sobrevivencia de los animales durante 10 días post-infección así como la colonización de distintos órganos al cabo de 3 y 7 días. Estudiamos además la cinética de colonización del SNC luego de 4, 22, 28, 44 y 50 h de la inyección endovenosa de 5 x 10⁶ levaduras viables. Para ello evaluamos en cerebro la presencia del hongo (UFC/g de órgano), las alteraciones histopatológicas en muestras teñidas con hematoxilina-eosina, PAS/alcian blue y la expresión de marcadores tempranos de activación de células del SNC (inmunohistoquímica). La sobrevivencia observada disminuyó en forma dosis dependiente ($p < 0.05$) y a todas las dosis estudiadas se recuperó el hongo de hígado, riñón, y bazo (UFC/g de órgano). La colonización del SNC resultó comparable a la observada en tejidos periféricos pudiéndose recuperar el hongo al cabo de 4 h de producida la infección. Las alteraciones histopatológicas incluyeron meningitis y abscesos, con mayor severidad al cabo de 48 h. La rápida llegada del hongo a nivel central se correlacionó con alteración de la barrera hematoencefálica, movilidad de la microglía y activación de neuronas.

ENDOCRINOLOGÍA V

- 320. (435) INHIBICIÓN DE LAS PEROXIDASAS POR EL MEDIADOR INSULÍNICO Y SU IMPORTANCIA EN EL MECANISMO DE PROLIFERACIÓN CELULAR.** KRAWIEC LEÓN, APHALO Paula, POLICASTRO Lucía Laura, M.V. DE CAVANAGH Elena, BERARDI Gabriela, PIZARRO Ramón Augusto, PISAREV Mario Alberto, BOCANERA Laura Viviana.

CONICET, CNEA, UBA

Resultados previos demostraron que cultivos tiroideos en presencia de insulina al generar un inhibidor citosólico de peroxidasas pierden la capacidad de organificar yodo. El inhibidor es termoestable, dializable (PM menor de 2kDa), sin especificidad tisular ni de especie. Se continúa el estudio físico-químico del compuesto, considerando el mantenimiento de actividad biológica como estabilidad. Los resultados indican que el inhibidor es insoluble en cloroformo, recuperable en las fases hidrofílicas por Folch y partición cromatográfica en Sephadex G-25. Resistente a proteinasas y nucleotidasas. Los picos de proteína obtenidos por partición, aislados por HPLC no mostraron actividad biológica. Sin embargo la fracción activa purificada por TLC, es fenol/sulfúrico positiva y sensible a metaperiodato de sodio, indicando su naturaleza oligosacárida. Por intercambio aniónico en AG1-X8 formiato, el material inhibitorio aislado por partición genera dos fracciones de inositol fosfoglicanos (IPG): P y A (50 a 100 % más activa). La pérdida de actividad por tratamiento con fosfatasa alcalina confirma al IPG como inhibidor de peroxidasas (TPO, HRP, LPO, GSH-Px). Incrementos en la concentración de insulina aumentan la actividad inhibitoria y la proliferación celular. Informes previos indican que la inducción de c-jun por insulina, IPG y H₂O₂ estimulan mitogénesis. Sugerimos que en este mecanismo insulina a través de IPG, al inhibir glutatión peroxidasa (GSH-Px), eleva el nivel de H₂O₂.

- 321. (450) DEFICIENCIA DE AROMATASA EN UNA NIÑA HETEROCIGOTA COMPUESTO PARA DOS NUEVAS MUTACIONES PUNTUALES EN EL GEN CYP19.** PEPE CAROLINA, MARINO Roxana, GUERCIO Gabriela, VAIANI Elisa, RIVAROLA Marco, BELGOROSKY Alicia.

Laboratorio de Investigación, Hospital de Pediatría "JP Garrahan"

La aromatización de andrógenos adrenales fetales es esencial para la producción de estrógenos en la placenta durante el embarazo. El defecto en esta actividad genera la acumulación de andrógenos adrenales y produce virilización en la madre y feto femenino. Han sido descritas 8 familias con 10 mutaciones puntuales en el gen CYP19. Se describe el estudio molecular del gen CYP19 y la evolución clínica desde el período neonatal hasta los 6 años de edad cronológica (EC) de una niña con ambigüedad genital, y antecedentes de virilización materna en el 5° mes de gestación. Los ni-

veles séricos de LH se mantuvieron elevados sólo los primeros 4 meses de vida postnatal, mientras que los de FSH persistieron elevados hasta los 6 años de EC. En la secuenciación a partir de ADN genómico de los exones codificantes y de las regiones intrónicas flanqueantes se encontró en el alelo materno una delección (A) en el codón glu 412, causando un corrimiento en el marco de lectura que resulta en un codón stop 98 pb corriente abajo. En el alelo paterno un cambio GxA en la última base del exón 5 resultaría en un cambio glu x lys en el codón 210 o en una alteración de splicing. Se describen dos nuevas mutaciones en el gen CYP19. El exceso androgénico durante la vida intrauterina condicionaría una alteración en la regulación de la secreción de LH postnatal temprana, mientras que la persistencia de niveles elevados de FSH podría estar vinculada a la deficiencia en la actividad aromatasas.

- 322. (560) IDENTIFICACIÓN EN EL GEN CYP21 DE POSIBLES POLIMORFISMOS (PM) ASOCIADOS A HIPERANDROGENISMO CLÍNICO Y HETEROCIGOSIS.** MARINO ROXANA, PEPE Carolina, GRYNGARTEN Mirta, DOMENÉ Horacio, BERGADA Ignacio, HEINRICH Juan, RIVAROLA Marco, ESCOBAR María, BELGOROSKY Alicia.

Laboratorio de Investigación, Hospital de Pediatría JP Garrahan; Serv. de Endocrinología, Hospital de Niños R. Gutierrez.

La deficiencia de 21hidroxilasa no clásica se asocia con diferentes grados de virilización postnatal. La respuesta a la prueba de estimulación con ACTH puede no correlacionar con el genotipo. El rol de la heterocigosidad en el gen CYP21B es controvertido. El objetivo fue evaluar PM que condicionarían signos clínicos de hiperandrogenismo (SCH) en pacientes con un único alelo afectado. Se estudiaron 6 niños prepúberes heterocigotas (ht) con SCH (grupoA) y 5 ht sin SCH (grupoB). Se secuenciaron los exones e intrones del gen CYP21. De todos los PM hallados consideramos relevantes a sólo 5 por su distribución entre ambos grupos (fueron hallados en el grupoA y sólo 1 se encontró en 1 individuo del grupoB) y por ser posibles candidatos a regular el splicing ya sea por afectar secuencias descritas anteriormente en otros genes como reguladoras de splicing, por su cercanía a sitios de splicing débiles o por su posible rol en la selección entre 2 sitios con similar score. Los PM considerados fueron: cambio GxA en posición +208 In2, AxGT en posición +12 del In6, TCCxTCT en el codón 374Ex9, GxT en posición +22 del In9 y CxT en posición +149 del In6. Se han descrito secuencias potenciadoras e inhibitorias de splicing exónicas e intrónicas en varios genes. Si bien se desconoce la existencia de estas secuencias en el gen CYP21B se podría postular que los PM hallados podrían alterar la regulación transcripcional de este gen y podrían estar relacionados con los SCH presentes en ht sintomáticos.

- 323. (564) RESPUESTA A GHRH Y SOMATOSTATINA EN CÉLULAS HIPOFISARIAS DE RATONES KNOCKOUT PARA EL RECEPTOR DOPAMINÉRGICO TIPO 2.** GARCÍA TORNADÚ ISABEL, BECÚ-VILLALOBOS Damasia, RUBINSTEIN Marcelo, DÍAZ-TORGA Graciela.

Instituto de Biología y Medicina Experimental - CONICET

En nuestro laboratorio demostramos que ratones deficientes de receptor dopaminérgico tipo 2 (D2), muestran importantes alteraciones de crecimiento. Se desarrollan con menor peso corporal que correlaciona con bajos niveles de GH e IGF-1 séricos los primeros dos meses de vida (Endocrinology 143: 1270, 2002). Para profundizar el estudio trabajamos en cultivo primario de células adenohipofisarias de machos de 1 mes de vida y adultos, knockout para el receptor D2 (KO) y wild type (WT). Encontramos que en los animales de 1 mes de vida los niveles basales de GH no difieren según el genotipo, así como tampoco es diferente la respuesta de GH a una estimulación con GHRH (24hs). En cambio, en los machos KO adultos, los niveles basales de GH son significativamente inferiores (KO: 797.0 + 119 vs WT: 1321.3 + 222 ng/ml) y responden menos a un estímulo por GHRH, mientras que la inhibición del efecto de GHRH por somatostatina es similar entre los grupos. Sorprendentemente la estimulación por GHRH fue parcialmente inhibida por dopamina en el grupo KO. Respecto a PRL, los basales

son muy superiores en el grupo KO, no responden a la dopamina pero sí son inhibidos por la somatostatina. Concluimos que la deficiencia del receptor dopaminérgico tipo 2 produce importantes alteraciones en el eje GHRH-GH, y si bien los niveles séricos hormonales se normalizan en la adultez, la actividad de la población somatotropa continúa alterada. Con el apoyo de ANPCyT y CONICET.

324. (600) EXPRESIÓN Y LOCALIZACIÓN ULTRAESTRUCTURAL DE PIT-1 Y C-MYC EN TUMORES HIPOFISIARIOS INDUCIDOS POR ESTRÓGENOS. MUKDSI JORGE, DE PAUL Ana, AOKI Agustín, TORRES Alicia.

Centro de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Introducción y objetivos: En la adenohipófisis es frecuente el desarrollo de tumores en cuya génesis participan numerosos factores. Se trató de determinar si existe una expresión diferencial de Pit-1 y c-myc en procesos proliferativos hipofisarios inducidos por estrógenos y su localización ultraestructural en los diferentes tipos celulares. **Materiales y métodos:** Ratas Wistar, machos controles y estimuladas con benzoato de estradiol por 7, 20 y 60 días (n 15/ grupo). Se realizó inmunocitoquímica por microscopía fotónica y electrónica y western blot de fracciones nucleares y citoplasmáticas. El análisis estadístico fue ANOVA - Tukey. **Resultados:** Luego de 60 días de estimulación la inmunodetección de Pit-1 se observó en áreas con neto predominio de lactotropas. Por microscopía electrónica se determinó su localización citoplasmática además de nuclear en células lactotropas, somatotropas y gonadotropas. La oncoproteína c-myc, fue identificada en el citoplasma de células dispersas. A los 20 y 60 días, se distribuyeron en pequeños grupos aislados. A nivel ultraestructural, se determinó además su localización nuclear. La expresión de ambos factores aumentó significativamente, en forma directamente proporcional al grado de estimulación estrogénica. La expresión incrementada de Pit-1 y c-myc tanto a nivel citoplasmático como nuclear, se vincula con el desarrollo de tumores hipofisarios. Un hecho destacable escasamente descrito fue la inmunodetección de Pit-1 en células gonadotropas.

325. (616) EXPRESIÓN DE LAS SUBUNIDADES DEL RECEPTOR GABA B EN HIPOTÁLAMO E HIPÓFISIS ANTERIOR DE RATAS ESTROGENIZADAS. REY-ROLDAN ESTELA B., BIANCHI María, LUX-LANTOS Victoria, LIBERTUN Carlos.

Instituto de Biología y Medicina Experimental

Previamente demostramos que las subunidades GABAB1a y GABAB1b del receptor GABAB (R-GABAB) presentan un perfil ontogénico de expresión en hipotálamo e hipófisis anterior. Nuestro objetivo es caracterizar la expresión de las subunidades del R-GABAB (GABAB1a, GABAB1b y GABAB2) en hipotálamos y adenohipófisis de ratas estrogenizadas. Se obtuvieron membranas de ambos tejidos de ratas hembras adultas tratadas con pellet de benzoato de estradiol (10 mg) durante 1 ó 5 semanas (E1 ó E5), hembras en proestro (PRO) o de 12 días de edad (12d), utilizadas como controles. Las subunidades del R-GABAB fueron detectadas por inmunoblot con anticuerpos específicos contra las subunidades GABAB1a/b y GABAB2. En hipotálamo la expresión de las subunidades GABAB1a, GABAB1b y GABAB2 es menor ($p < 0.05$) en E1 y E5 respecto de PRO y 12d [GABAB1a(UA): E5:5.4±0.4; E1:6.8±0.4 PRO:9.4±0.7; 12d:12.7±0.6; GABAB1b(UA): E5: 6.6±0.6; E1:10.3±0.6; PRO: 4.8±0.3; 12d:15.1±0.6; GABAB2(UA):E5:2.4±0.1; E1:2.2±0.6; PRO:4.7±0.6; 12d:8.0±0.4]. Además, GABAB1b es menor en E5 respecto de E1 ($p < 0.001$). En adenohipófisis ambas variantes de splicing de R-GABAB1 se expresarían en cantidades similares tanto en E1 y E5 como en PRO, mientras que es significativamente mayor en ratas infantiles ($p < 0.05$). Estos resultados muestran que el tratamiento con estradiol disminuye la expresión de las subunidades del R-GABAB en hipotálamo, mientras que en hipófisis no se observa este efecto (CONICET-UBA).

326. (631) EXPRESIÓN GÉNICA Y LOCALIZACIÓN ZONAL DE IGF1 Y DEL RECEPTOR DE IGF1 TIPO 1 (IGF1-R1) EN FUNCIÓN DE

LA EDAD EN TEJIDO ADRENAL HUMANO (TAH) PREPUBER Y PUBER. BAQUEDANO MARÍA SONIA, BERENSZTEIN Esperanza, DARDIS Andrea, SARACO Nora, RIVAROLA Marco aurelio, BELGOROSKY Alicia.

Laboratorio de Investigación, Hospital de Pediatría Garrahan

La adrenarca humana (AH) se caracteriza por el aumento de andrógenos adrenales entre los 6 y 8 años y se asocia con el desarrollo de la zona reticularis (ZR). El IGF1 estaría implicado en la regulación del crecimiento y diferenciación de la glándula adrenal. Con el objeto de evaluar el rol de IGF1 en la adrenarca, se estudió la abundancia del ARNm de IGF1 y su receptor (IGF1-R1) por RT-PCR relativa y la localización inmunohistoquímica de IGF1 en TAH. En función de la edad de comienzo de la adrenarca, los resultados se analizaron en 3 grupos de edades; Gr1:<3 meses-m- (zona fetal n=12); Gr2:3m a 6a (n=17); Gr3: >6a (n=12). La abundancia de los ARNm de IGF1 y IGF1-R1 fueron similares en el Gr1 y Gr3. El IGF1 fue significativamente más alto y el IGF1-R1 más bajo en el Gr2 ($p < 0.05$). La localización inmunohistoquímica de IGF1 en cortes de tejido fijados y embebidos en parafina reveló altos niveles en la zona fasciculata (ZF) independientemente de la edad, pero muy débil expresión en ZR del Gr3. El incremento de la ZR durante la prepubertad coincidiría con el descenso de la expresión de IGF1. Dado que se ha descrito que el IGF1 ejerce una regulación negativa sobre su propio receptor, se podría postular que la escasa expresión de IGF1 en la ZR sería un mecanismo de regulación local que sensibilizaría a las células a la acción de IGFs, tanto por vía parácrina desde la ZF, o periférica implicando al eje GH-IGF1.

327. (687) ESTUDIO CUANTITATIVO DEL TEJIDO ADIPOSO (PARIETAL Y VISCERAL) EN ANIMALES SOMETIDOS A DIETA HIPERLIPÍDICA Y SU RELACIÓN CON LA LEPTINA. CAMIHORT GISELA, LUNA Georgina, FERESE Celia, TAVELLA Marcelo, SPINEDI Eduardo, CONSOLE Gloria.

Cátedra de Histología y Embriología B Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata; Programa de Prevención del Infarto en la Argentina, Instituto Multidisciplinario de Biología Celular

La leptina (LEP), hormona sintetizada por el tejido adiposo, actúa como señal lipostática capaz de regular el eje hipotálamo-hipofisario-adipocitario. Se evaluó el tejido adiposo parietal (GP) y visceral (GV), relacionándolos con la leptina, en animales sometidos a dieta grasa (DG) durante 120 días, con/sin MSG. Las muestras histológicas se inmunomarcaron mediante un sistema anti-LEP-EnVision- cromógeno DAB. En el grupo de DG, la GV c/MSG mostró aumento de DC, con descenso del TC ($p < 0.001$). DV de DG unilocular con MSG representó 63%, mientras la grasa multilocular fue 37%. La GP unilocular c/MSG descendió ($p < 0.01$) en DV, aumentó DC, con descenso en TC ($p < 0.001$).

DG	Unilocular Visceral DG sin MSG	Unilocular Visceral DG con MSG	Multilocular Visceral DG sin MSG	Multilocular Visceral Con MSG	Parietal Unilocular DG sin MSG	Parietal Unilocular DG con MSG
DV (x10-2)	77 ± 5	66 ± 5	58 ± 6	40 ± 10	92 ± 2	85 ± 2*
DC (x10-5)	24 ± 2	36 ± 5*	153 ± 16	143 ± 3	24 ± 1	37 ± 2*
TC (µm ²)	3930 ± 291	1787 ± 203*	371 ± 17	264 ± 22*	4018 ± 189	2627 ± 163*

Concluimos que la DG produjo adipogénesis (grasa multilocular) en GV, proceso selectivo ya que no fue detectado en la GP.

328. (689) MORFOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO (PARIETAL Y VISCERAL) Y SU RELACIÓN CON LA LEPTINA EN UN MODELO DE DENERVACIÓN HIPOTALÁMICA. LUNA GEORGINA, CAMIHORT Gisela, JURADO Susana, GOMEZ DUMM Cesar, SPINEDI Eduardo, CONSOLE Gloria.

Cátedra de Histología y Embriología B Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de La Plata; Instituto Multidisciplinario de Biología Celular.

El eje hipotálamo-hipofisario-adipocitario sufre alteraciones luego del tratamiento neonatal con glutamato monosódico (MSG). Se evaluó el tejido adiposo (parietal y visceral) relacionándolo con la leptina, en ratas hembras sometidas a denervación hipotalámica. Las muestras histológicas fueron procesadas para microscopía de luz y se inmunomarcaron mediante un sistema anti-LEP- EnVision (Dako)-DAB. En el grupo MSG (vs control) a) la grasa visceral unilocular (62.5%) mostró descenso *($p < 0.01$) en DV, observándose grasa multilocular (37.5%) y b) la grasa parietal aumentó *($p < 0.01$) en DV, a expensas de TC, con descenso *($p < 0.001$) de DC.

DN	Visceral	Visceral	Multilocular	Parietal	Parietal
	Unilocular Sin MSG	Unilocular Con MSG	Visceral Con MSG	Unilocular Sin MSG	Unilocular Con MSG
DV (x10-2)	88 ± 1	70 ± 3 *	42 ± 7	79 ± 3	88 ± 2 *
DC (x10-5)	41 ± 2	36 ± 2	97 ± 1	75 ± 2	25 ± 1 *
TC (µm ²)	2184 ± 92	2142 ± 138	332 ± 24	1866 ± 218	3903 ± 198 *

Concluyendo, el MSG indujo adipogénesis en la GV e hipertrofia celular en la GP, debido a una reducción del número de adipocitos.

- 329. (723) COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ÁCIDO TRIIODOTIROACÉTICO (TRIAAC) Y TRIIODOTIRONINA (T3) SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA TIROIDES, ENZIMAS HEPÁTICAS HORMONO-TIROIDEAS DEPENDIENTES Y METABOLISMO ÓSEO.** BURGUEÑO ADRIANA, ZENI Susana, ALVAREZ Laura, HOCKL Pablo, RANDI Andrea, HERNANDEZ Susana, PISAREV Mario, KLEIMAN Diana.

Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, Departamento de Radiobiología, (CNEA), IBYME

El tratamiento de los bocios eutiroideos con tiroxina aumenta el riesgo de osteoporosis. Se ha propuesto que el TRIAAC no produciría estos efectos indeseables. Objetivos: comparar el efecto in vivo del TRIAAC y la T3, en la prevención del bocio inducido por metilmercaptoimidazol (MMI) en ratas, sobre: a) el crecimiento tiroideo, b) la secreción de TSH, c) la actividad de enzimas hepáticas d) el metabolismo óseo. Resultados: La TSH y la relación tiroides (mg)/p.c.(g), aumentaron 2.6 veces ($p < 0.05$) por el MMI vs los C (1.16 ± 0.1 ng/ml). TRIAAC 25 µg y T3 1 µg/100g p.c. previnieron el crecimiento. El aumento de TSH, fue revertido por TRIAAC (12 µg) y T3 (1 µg), dosis que a su vez aumentaron 2.5 veces ($p < 0.005$) la actividad de la enzima málica vs C (20.06 ± 2.65 nU/mg). 25 µg de TRIAAC y 5 µg de T3 aumentaron 39% y 49% ($p < 0.05$) la actividad de L-glicerol-3-P-deshidrogenasa vs el C (120 ± 12 nU/mg). El MMI aumentó la fosfatasa alcalina ósea (FAO) 29% ($p < 0.03$) vs C (31 ± 2.69 U/l) y 76% ($p < 0.05$) el telopéptido carboxi terminal del colágeno tipo I, (CTX) vs C (32.8 ± 5.82 nM). La densidad mineral ósea de la tibia medida por densitometría de doble haz (LUNAR), bajó 28%, ($p < 0.05$) por MMI (C: 190 ± 4.93 mg/cm²). El TRIAAC no revirtió estos efectos, pero la T3 disminuyó la CTX a valores C. Conclusiones: El TRIAAC es más activo que la T3 en la inducción de las enzimas hepáticas y en la inhibición de la secreción de TSH. El TRIAAC y la T3 no revirtieron la pérdida de masa ósea inducida por MMI.

- 330. (843) ESTUDIO SOBRE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO EN EL HIPERTIROIDISMO.** GUERRA LILIANA N., BASSO Mariela F., MOIGUER Silvia, KARNER Mirta, BURDMAN Jose A., RÍOS DE MOLINA Ma del Carmen.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA; Fundación CIMAE; Hospital Israelita EZRAH Hospital Israelita EZRAH, Universidad Abierta Interamericana

Recientemente demostramos que tratamientos con metimazol y/o una mezcla antioxidante disminuye los niveles de malondialdehído (MDA) y la actividad de superóxido dismutasa (SOD) en pacientes con enfermedad de Graves. Para estudiar la relación entre hormona tiroidea y metabolismo oxidativo realizamos

estudios de: bioluminiscencia, actividad SOD y catalasa y, MDA, en la línea celular de hepatoma humano Hep2. Dosis de 0.1, 1.0, 10.0, 20.0, 40.0, 100.0, 200.0 y 400.0 nM de T3 fueron incluidas en el medio de cultivo de la línea celular. Dosis mayores de 200 nM mostraron un efecto lítico sobre las células (por exclusión del colorante azul tripán). Los tiempos de tratamiento fueron desde 1 hora hasta 48 horas. A concentraciones de 20 nM de hormona se observó un aumento significativo de MDA comparando con controles tratados con vehículo (vehículo: 26 ± 4 vs. T3: 77 ± 6 mmolMDA/mg de proteína, $p < 0.05$). La actividad de catalasa no se modificó durante el tratamiento (vehículo: 1.9 ± 0.3 vs T3: 1.8 ± 0.1 umol enzima/ug proteína). La actividad de SOD aumentó con T3 (vehículo 1.97 ± 0.44 vs T3: 4.03 ± 0.38 U/ug proteína, $p < 0.05$). No se observaron cambios en la bioluminiscencia luego de los tratamientos (vehículo: 69 ± 16 vs T3: 45.5 ± 1.1 CPM/ug proteína). En base estos resultados se podría especular que el anión superóxido pero no el peróxido de hidrógeno está involucrado en el estrés oxidativo provocado por T3. Estudios a tiempos menores están en curso en el momento para corroborar esta hipótesis.

- 331. (873) RITMOS HORMONALES EN RATAS DIABÉTICAS NO INSULINO-DEPENDIENTES (MODELO GOTO-KAKIZAKI).** REYES MARÍA PATRICIA, BALERIAUX Mireille(2), LEE Fuchun(2), LANDRIERE Laurence(2), VAN REETH Olivier(2), COPINSCHI George(2).

Laboratorio de Neurociencia, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, U.B.A 2: Laboratory of Experimental Medicine, Brussels Free University, Brussels, Belgium

El núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo es el responsable de modular actividades del comportamiento tal como, ritmo sueño / vigilia, funciones autonómicas, como así también varios ritmos hormonales. Ha sido descritas vías neuronales polo sinápticas entre el NSQ y el hígado siendo responsable del ritmo basal de 24 h. de glucosa. El objetivo de este estudio fue describir las alteraciones de ritmos hormonales en un modelo animal de diabetes no insulino dependiente: rata Goto-Kakisaki (GK), un modelo genético de diabetes tipo II no obesa. Método: se analizaron los ritmos hormonales de la glucosa, insulina, leptina, corticosterona y prolactina en ratas Wistar GK de 35 semanas (n = 10). Las muestras fueron tomadas cada 2hs durante un periodo de 24h. Resultados: Se observó un aumento de la insulina resistencia durante la noche, niveles de corticosterona inferiores durante el día (7h. 56.21 ± 10.82 versus 193.3 ± 38.9 ng/ml; $P < 0.01$), la acrofase de la leptina sucedió en la 1er. fase de la noche y se registró un aumento de la prolactina durante la noche en las ratas Wistar GK. Nuestros resultados aportan datos para comprender mejor algunas anomalías hormonales circadianas en un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente como por ejemplo una marcada disminución de la corticosterona en las GK con una probable disminución de su respuesta al estrés, y así poder aproximarse al estudio del disfuncionamiento hormonal circadiano en los pacientes diabéticos tipo II.

- 332. (990) FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA HIPERPLASIA HIPOFISARIA DE RATONES HEMBRA DEFICIENTES EN EL RECEPTOR DOPAMINÉRGICO TIPO2 (D2).** CRISTINA CAROLINA, ACHÁVAL Rita, BALDI Alberto, LOW Malcom, RUBINSTEIN Marcelo, DÍAZ-TORGA Graciela, BECÚ-VILLALOBOS Damasia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental- CONICET

Los ratones hembra deficientes en el receptor dopaminérgico tipo2 (D2^{-/-},ko) desarrollan hiperprolactinemia crónica e hiperplasia hipofisaria de células lactotropas. En el presente trabajo estudiamos la expresión del factor de crecimiento fibroblástico (FGF-2) y su receptor (FGFR), del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y de la proteína producto del gen transformante tumoral hipofisario (pttg) en ratones hembra con receptor D2 funcional (wt) y en los ko. Ratones hembra adultos (ko y wt) de 8 meses de edad fueron decapitados y sus hipófisis procesadas para Western blot. Encontramos una disminución en la expresión de pttg (-62 ± 8.2 %) y FGF-2 (-38.1 ± 15 %) en las hipófisis de hembras ko comparadas

con las wt. Un tratamiento con valerato de estradiol (5ug, sc) indujo la expresión de pttg sólo en las hembras ko. No encontramos diferencias en FGFR. Por otro lado, en los ratones ko se vio aumentado el VEGF. Probablemente los niveles bajos o irregulares de estrógenos en los ko estén relacionados con el bajo contenido de pttg y FGF-2 hipofisario en este grupo. Concluimos que la hiperplasia en este modelo animal no estaría asociada al aumento de estos factores de crecimiento, pero posiblemente el factor de crecimiento angiogénico VEGF podría participar en el desarrollo del tumor hipofisario. Con el apoyo de CONICET y ANPCYT.

333. (999) CAMBIOS EN LOS NIVELES DEL MENSAJERO PARA IGF-I Y SU RECEPTOR DURANTE LA DIFERENCIACION DE LOS PREADIPOCITOS 3T3-L1 A ADIPOCITOS. ZIZOLA CYNTHIA, BALAÑA Eugenia, SANDOVAL Marcela, CALVO Juan.

IByME-CONICET, Depto. de Qca.Biológica, FCEyN, UBA. Bs As, Argentina

El IGF-I es necesario para diferenciar los preadipocitos 3T3-L1 a adipocitos. Aunque se demostró la expresión del ARN mensajero para IGF-I (ARNm IGF-I) en cultivos primarios y líneas de preadipocitos de ratón y humano, no se determinó aún en 3T3-L1. Objetivo: examinar la expresión del ARNm IGF-I y su receptor durante la diferenciación de 3T3-L1. Métodos: Western-blot para analizar el receptor para IGF-I (R-IGF-I) y determinación del ARNm IGF-I mediante protección a la ARNasa. Resultados: la diferenciación de los preadipocitos (pre) a adipocitos (dif), con dexametasona, isobutimetilxantina e insulina (10 µg/ml), redujo los niveles del R-IGF-I respecto de los cultivos no diferenciados (pre 0,92±0,02. vs dif 0,26±0,02 p<0,001) (unidades densitométricas ± SEM). Los preadipocitos tratados solamente con insulina también presentaron menores niveles del receptor (0,52±0,12) que los controles (1,03±0,15) p<0,01. La diferenciación en ausencia de insulina mostró una reducción en la expresión del R-IGF-I (pre 0,99±0,06 vs dif 0,20±0,01 p<0,05). Los cultivos diferenciados mostraron mayores niveles de ARNm IGF-I que los preadipocitos (pre 0,22±0,03 vs dif 0,82±0,04. p<0,01). Una reducción en la expresión del receptor para IGF-I y un aumento del ARNm IGF-I acompañan la diferenciación de 3T3-L1 a adipocitos. Sugerimos que el IGF-I, actuando en forma paracrina y/o autocrina sobre los preadipocitos, regularía negativamente a su receptor llevando a la aparición de los adipocitos.

GENÉTICA I

334. (445) ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DELECCIÓN COMUN DE 4977PB DEL ADN MITOCONDRIAL (ADNMT) EN TEJIDOS HUMANOS TUMORALES Y NORMALES DE COLON. POLISECKI ELIANA, MARINO Miguel, SALA Andrea, PENACINO Gustavo, CORACH Daniel.

Catedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Servicio de Huellas Digitales Genéticas

La mitocondria juega un activo rol en el metabolismo energético, generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) e iniciación de la apoptosis, interviniendo en la diferenciación entre muerte celular y crecimiento anormal. La delección común de 4977pb en el ADNmt, flanqueada por una repetición de 13pb se asocia con aumento de la edad, en procesos oxidativos con aumento de ROS y con tejidos de baja actividad mitótica como cerebro y músculo esquelético. No está clara la presencia de la delección en tejidos tumorales con alta actividad mitótica y requerimiento metabólico que podrían generar elevadas ROS. Objetivo: evaluar la presencia de la delección común en tejidos tumorales y normales de colon. Se estudiaron 13 pacientes con cáncer de colon, se tomó tejido tumoral y normal con una distancia entre ellos de 6-20 cm. Las muestras de ADN se amplificaron por PCR multiplex, utilizando primers para la delección y una zona control del D-Loop mitocondrial. Las ampliificaciones fueron chequeadas en geles de agarosa y posterior secuenciación. Se observó que 11/13 tejidos tumorales no presentan delección mientras que 10/13 tejidos normales sí muestran delección 4977pb. Dado que la presencia de la delección común de 4977pb disminuiría el metabolismo energético mitocondrial,

la falta de asociación entre esta delección y el tejido tumoral se relacionaría con el elevado requerimiento energético de la célula tumoral necesaria para su replicación y expansión.

335. (532) ALTERACIONES MOLECULARES EN LA PEROXIDASA TIROIDEA DE UN PACIENTE CON BOCIO CONGÉNITO Y CRETINISMO. CARCAGNO ABEL, AMADIO Ariel, SILBER Ariel, GARCÍA Sergio, TARGOVNIK Hector, NIEPOMNISZCZE Hugo.

Departamento de Química Biológica, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; Div. Endocrinología y Div. Genética Hospital de Clínicas, UBA, INTEBIO, Univ. Nac. del Litoral.

El 10% de los recién nacidos con hipotiroidismo congénito, poseen un defecto en la organificación del yodo (TIOD). La causa hereditaria (autosómica recesiva) más común de este defecto es debida a la deficiencia de la Tiroperoxidasa (TPO), que cataliza tanto la oxidación como el acoplamiento de los residuos iodotirosílicos. El objetivo del trabajo fue realizar estudios genéticos de la TPO para caracterizar un caso de hipotiroidismo congénito y cretinismo que podía dar información sobre la estructura y función específica de esta enzima. Para ello se realizó la amplificación de los exones 1-13 por PCR a partir de DNA genómico. Los fragmentos amplificados fueron secuenciados y comparados con las secuencias informadas en GENBANK y la mutación fue analizada por ensayos con enzimas de restricción. Se han identificado: a) Cuatro polimorfismos ya descritos, exón1 G11A, exón8 G1207T y G1283C, exón11 C2088T; b) Un nuevo polimorfismo en heterocigosis exón11 G2086A que produce un cambio de D a N en la posición 666; c) Una nueva mutación en uno de los alelos exón8 G1267T, que produce el cambio en la posición 393 de una G por un codón STOP también presente en la madre y un hermano del paciente. La mutación encontrada, explica en parte el TIOD, ya que evita la síntesis de una TPO activa, pero debe existir alguna variación en el otro alelo del paciente para explicar el fenotipo del mismo. El ensayo de digestión con la enzima Ddel podrá ser utilizado como diagnóstico de presencia de la mutación.

336. (610) IDENTIFICACION DE MUTACIONES GERMINALES EN PACIENTES CON RETINOBLASTOMA. RELACION GENOTIPO-FENOTIPO? DALAMÓN VIVIANA, SURACE Ezequiel, GILBERTO Florencia, FERREIRO Veronica, COTIGNOLA Javier, SZIJAN Irene.

Cátedra de Genética y Biología Molecular. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Univ. de Buenos Aires

El retinoblastoma (Rb) es un tumor ocular maligno de la niñez (hasta 4-5 años). Es causado por la pérdida de función de ambas copias del gen supresor tumoral RB1 (13q14), que codifica para una proteína reguladora del ciclo celular. Ocurre en forma hereditaria (40%) y no hereditaria (60%). Se realizó la búsqueda de mutaciones germinales en tres pacientes con Rb, con distintas características clínicas: 1) hereditario transmitido (con antecedentes, tumor bilateral, detectado a los 2 meses de edad), 2) hereditario de novo (sin antecedentes, tumor bilateral, detectado a los 3 meses de edad), 3) no hereditario (sin antecedentes, tumor unilateral unifocal, detectado a los 3 años de edad). Se analizó ADN de leucocitos, por PCR-Heteroduplex- secuenciación para los 27 exones del gen RB1. En los tres pacientes se identificaron mutaciones predisponentes para la patología. Paciente 1 y 3: mutación CxT (codón 579, exón 18). Paciente 2: cambio CxT (codón 787, exón 23). Ambas mutaciones generan un cambio del codón Arg por Stop lo cual produciría una proteína trunca con pérdida de funcionalidad. Estos resultados sugieren que: 1-la sustitución CxT se asocia frecuentemente al desarrollo de retinoblastoma. 2-la misma mutación en el exón 18 da lugar a diferentes presentaciones clínicas. Esto nos llevó a cuestionarnos por qué la misma alteración genética puede producir fenotipos tan distintos y si es posible relacionar la mutación encontrada con la forma de presentación de la patología.

337. (642) DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE - MOSAICISMO GERMINAL. GILBERTO FLORENCIA, FERREIRO Verónica, DALAMÓN Viviana, COTIGNOLA Javier, SZIJAN Irene.

Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Univ. de Buenos Aires

La distrofia muscular de Duchenne es una de las enfermedades hereditarias más frecuentes (1:3500). Es recesiva, ligada al X, con síntomas clínicos progresivos y de evolución fatal. La alteración molecular responsable de esta patología se debe a mutaciones en el gen de la distrofina (locus Xp21). Se realizó el estudio molecular en una familia con antecedentes, se analizaron 3 varones (dos de ellos afectados) y 5 mujeres. La identificación de la delección se realizó por PCR simplex y multiplex, hallándose ausente el exón 50 en los afectados. Para la detección de portadores se estudió la segregación de 6 STRs intragénicos (DYS II, 7A, 44, 45, 49 y 50). La madre, portadora obligada, resultó heterocigota para todos los loci analizados. Si bien todos los hijos heredaron el mismo cromosoma materno, sólo los afectados y 2 mujeres mostraron delección del STR 49. Esto permitió determinar el estado de portadora en las mismas, resultando otras 2 excluidas de ser posibles portadoras. La herencia del mismo cromosoma X materno con y sin delección en afectados y sanos respectivamente permitió evidenciar la presencia de mosaicismo germinal en la madre. Se quiere demostrar la importancia de la utilización conjunta de métodos directos e indirectos, con varios marcadores, como herramienta para el diagnóstico de casos complejos.

- 338. (647) RELACIÓN ENTRE LA LOCALIZACIÓN DE LA MUTACIÓN Y EL RETRASO MADURATIVO EN PACIENTES CON Distrofia Muscular de Duchenne/Becker.** FERREIRO VERÓNICA, GILIBERTO Florencia, DALAMÓN Viviana, COTIGNOLA Javier, SZIJAN Irene.

Cátedra de Genética y Biología Molecular. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Univ. de Buenos Aires

La Distrofia Muscular de Duchenne/Becker (DMD/BMD) es una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X caracterizada por una degeneración muscular progresiva. Es causada por mutaciones en el gen de la distrofina (60% grandes delecciones), que codifica para una proteína de 427 kDa, asociada con el sarcolema en músculo y algunas neuronas. El gen contiene varios promotores que generan distintas isoformas de la distrofina, algunas específicas de SNC. Aproximadamente el 50% de los afectados presenta un retraso madurativo (RM) de tipo no progresivo asociado a la distrofia muscular. Se estudiaron 126 pacientes no relacionados con DMD/BMD con el fin de encontrar una relación entre el mapeo de la delección y el estado cognitivo de los mismos. La delección se identificó en 51 de ellos mediante PCR multiplex y simplex y se determinaron las posibles isoformas afectadas. Las habilidades cognitivas fueron testeadas en 47 de los 51 con mutación identificada encontrándose RM en 24 de ellos. La comparación de los resultados moleculares con el estado neuropsicológico de los pacientes demostró que las delecciones localizadas en la zona central y 3' del gen se asocian preferencialmente con el retraso madurativo.

- 339. (673) FRECUENCIA Y DISTRIBUCION DE LOS REARREGLOS MOLECULARES DEL GEN BCL-2 EN LINFOMAS FOLICULARES.** NORIEGA MARÍA F¹, DE BRASI Carlos¹, NARBAITZ Marina², SLAVUTSKY Irma¹.

Departamentos de Genética¹ y Anatomía Patológica², Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

Los Linfomas Foliculares (LF) representan el 40% de los linfomas no-Hodgkin a células B del adulto. Por métodos convencionales, el 70-85% de estos linfomas presentan la t(14;18)(q32;q21), que determina la desregulación del gen bcl-2. Los puntos de ruptura (PR) más frecuentes son: MBR (Mayor Breakpoint Region) 60% y mcr (minor cluster region) 25%, detectándose PR por fuera de los sitios convencionales, para lo cual resulta de elección la técnica de PCR de larga distancia (PCR-LD). En este estudio se evaluó la frecuencia y distribución de los rearreglos del gen bcl-2 en 67 pacientes con LF, empleándose las técnicas de nested-PCR y PCR-LD. Veintiseis casos (39%) resultaron positivos para el rearreglo MBR/JH y 13 (19%) para el rearreglo mcr/JH por la técnica de nested-PCR dando un total de 39 (58%) de casos positivos. Usando la técnica de PCR-LD se observaron 18 pacientes

positivos para los rearreglos del gen bcl-2: 9 (13%) fueron positivos para LD-MBR/JH y 9 (13%) para LD-mcr/JH, obteniéndose de esta forma un total de 57 pacientes positivos (85%) para ambos rearreglos. El incremento de casos positivos mediante el empleo de la técnica de PCR-LD muestra su importancia a fin de optimizar el diagnóstico molecular de la t(14;18) en pacientes con LF, tendiente a poder efectuar un mejor seguimiento clínico y detectar enfermedad mínima residual. Asimismo, cabe remarcar, que el presente estudio representa el primer análisis de este tipo realizado en el país.

- 340. (697) POLIMORFISMO C677T (VARIANTE TERMOLÁBIL ALA/VAL) DEL GEN DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA Y SU EFECTO SOBRE LA HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN UN GRUPO POBLACIONAL ARGENTINO.** GROSSO CAROLA, OLLER RAMÍREZ Ana, DODELSON DE KREMER Raquel.

Centro de Estudio de las Metabolopatías Congénitas, Hospital de Niños, Fac.Cs.Médicas, Univ.Nac.Cba.

5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es una enzima clave en el metabolismo del folato. La sustitución C677T es un polimorfismo frecuente en el gen MTHFR y ha sido asociado a enfermedades vasculares, neoplásicas, defectos del tubo neural y otras. Esta variante se presenta con una frecuencia en homocigosis de hasta un 30% en poblaciones mediterráneas e hispánicas y constituye la determinante genética más importante de hiperhomocisteinemia moderada aunque dependiente del nivel de folato, encargado de la estabilidad de la enzima mutada termolábil. En Argentina no hay registro de estudios previos sobre el tema. Objetivos y métodos: Establecer en la población normal: i. rangos referenciales de homocisteína plasmática total (Hcit) basal y post L-Met (PM), por HPLC (n=99); ii. determinar la prevalencia de los genotipos para C677T, por PCR-ELISA (n=54) y iii. correlacionar el efecto de ii. sobre i. Resultados: Valores referenciales de Hcit (µmol/L): basal, X 9,8±DE 5,5 y PM, X 28,7±DE 11,3. Prevalencia del genotipo en MTHFR: 15% 677TT, 39% 677CT y 46% 677CC. Las medias de la Hcit basal y PM para los tres distintos genotipos caracterizados no mostraron diferencias estadísticas significativas (P>0,05). De etnicidad heterogénea, el grupo control mostró una alta prevalencia de C677T (54%) pero sin asociación con hiper-Hcit basal y en PM. Estudios adicionales en casos selectivos (ej. cardiovasculares) mejorarán la definición del riesgo de este polimorfismo en nuestra población.

- 341. (748) PROTOPORFIRIA ERITROPOYÉTICA. POLIMORFISMOS Y HERENCIA EN PACIENTES ARGENTINOS.** PARERA VICTORIA, KOOLE Rita, MINDERMAN Gardi, ROSSETTI María, BATLLE Alcira, DE ROOIJ Felix.

Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias-FCEyN-UBA-CONICET Lab Internal Medicine II, University Hospital Rotterdam, The Netherlands

La Protoporfirina Eritropoyética (PPE) es un desorden genético producido por una disminución de la actividad de la ferroquelatasa (FECH) que lleva a la acumulación de Protoporfirina IX (PROTO IX) en glóbulos rojos, plasma, hígado y una excreción aumentada en materia fecal. Se caracteriza por una fotosensibilidad temprana con edema y eritema en áreas expuestas a la luz. Una minoría de pacientes pueden desarrollar complicación hepática importante. Se han descrito 67 mutaciones diferentes y 7 polimorfismos en el gen que codifica para la FECH. En SAIC 2000 presentamos los resultados del primer estudio genético en 6 familias con PPE. En 5 de ellas detectamos 3 mutaciones nuevas: 451delT, IVS1-2a/g, IVS4-2a/g y 2 mutaciones reportadas: C343delT y 400delA. El objetivo de este trabajo fue el estudio de los polimorfismos -251ex1a/g y IVS1-23c/t y su relación con la manifestación clínica de la PPE. Se aisló el ADN genómico de sangre periférica y las regiones promotora y exón1/intrón1 amplificadas se secuenciaron y se corrieron en un secuenciador automático. La concentración de PROTO IX en glóbulos rojos y la actividad enzimática en linfoblastos se midieron por HPLC. Todos los pacientes presentaron un valor de ferroquelatasa 25% del valor normal y los polimorfismos -251exa/g y IVS1-23c/t. Nuestros resultados confirman que la herencia del

haplotipo a/g y c/t para estos polimorfismos junto con una mutación en el gen de la FECH son necesarios para el desencadenamiento de la PPE.

- 342. (769) ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS Y REARREGLOS MOLECULARES EN LINFOMAS B DIFUSOS A CÉLULAS GRANDES.** CERRETINI ROXANA^{1,2}, NORIEGA Fernanda², NARBAITZ Marina², SLAVUTSKY Irma².

Centro Nacional de Genética Médica¹ Departamentos de Genética y Anatomía Patológica, Academia Nacional de Medicina², Buenos Aires

Los linfomas difusos a células grandes (LBDCG) representan alrededor del 30%-35% de los linfomas no Hodgkin (LNH) del adulto. Se presentan los estudios citogenéticos, citomoleculares y moleculares realizados en 33 pacientes con diagnóstico de LBDCG a fin de determinar los rearrreglos genómicos más frecuentemente involucrados en los mismos. Se realizaron cultivos de médula ósea y/o ganglio linfático de corto término (24-48hs). Se empleó la técnica de GTG. En el 34% de los casos las anomalías detectadas fueron definidas por FISH. Se empleó PCR para evaluar los rearrreglos del gen BCL-2. El 70% de los casos presentaron cariotipos con anomalías cromosómicas clonales. Los cromosomas 2, 6, 8 y 9 se hallados más involucrados en alteraciones estructurales mientras que los cromosomas 6, 8, 12, 16, 18 y 22 participaron en anomalías numéricas. La t(14;18)(q32;q21) fue la anomalía cromosómica más frecuente (5/23, 21,7%). El rearrreglo del gen BCL-2 fue evaluado en el 19/33 pacientes, encontrándose positividad en el 20% de los casos con cariotipo normal (2/10) y en el 66,9% (6/9) de los que presentaban alteraciones citogenéticas. Los casos con t(14;18) mostraron mayor frecuencia de translocaciones adicionales, reflejando diferentes patrones de inestabilidad genética. El alto porcentaje de pacientes portadores de anomalías cromosómicas así como la heterogeneidad citogenética encontrada, indican la importancia de estos estudios para la caracterización biológica de los LBDCG.

- 343. (989) DELECIÓN HEMICIGOTA DE GENES SUPRESORES DE TUMOR (GST) EN LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA (LLC).** CHENA CHRISTIAN¹, ARROSSAGARAY Guillermo², SLAVUTSKY Irma¹.

Depto. de Genética - Academia Nacional de Medicina Clínica Hematológica² - Academia Nacional de Medicina

Los GST inhiben la proliferación celular impidiendo el desarrollo neoplásico. Eventos genéticos tales como deleciones o mutaciones determinan la alteración de su expresión contribuyendo tanto a la patogénesis como a la progresión tumoral. El objetivo del presente trabajo es evaluar deleciones de GST en pacientes con LLC. Se efectuó cultivo de linfocitos de sangre periférica de 72-96 hs, suplementados con suero fetal bovino, con estimulación mitogénica. Se utilizó la técnica de hibridación in situ con fluorescencia (FISH) empleándose las sondas de secuencia única de los genes p53, RB-1 (retinoblastoma), DBM (deleted in B cell malignancies) (D13S319 y D13S25) y 9p21, que corresponde a la ubicación de los genes ARF, INK4((A)) e INK4((B)). Se evaluaron 47 pacientes, observándose 12,5% (6/47) de los casos con deleciones de p53, 46,8% (22/47) con pérdida monoalélica de RB-1 y 70,2% (33/47) con monosomía para DBM. No se observaron pérdidas de 9p21. Ocho casos no mostraron alteración. El alto porcentaje de pérdida de DBM sustenta la probable presencia de un GST, ubicado en dicha región, importante en la patogénesis de la LLC. Los pacientes con pérdida de p53 mostraron corta sobrevida y escasa respuesta al tratamiento. Estos datos muestran la participación de los GST en el desarrollo de la LLC, sugiriendo que la desregulación de los mismos conferiría ventajas proliferativas adicionales al clon leucémico, pudiendo representar interesantes blancos para nuevas estrategias terapéuticas.

- 344. (1030) ACORTAMIENTO TELOMÉRICO EN MIELOMA MÚLTIPLE (MM) Y GAMOPATÍAS MONOCLONALES DE SIGNIFICADO INCERTO (MGUS).** COTTLIAR ALEJANDRA¹, PEDRAZZINI Estela^{1,2}, ENGELBERGER Inés³, CORRADO Claudia³, NARBAITZ Marina⁴, SLAVUTSKY Irma¹.

Deptos de Genética¹, Oncohematología³ y Patología⁴, Academia Nacional de Medicina. Facultad Cs Exactas², UNLP.

El análisis molecular de telómeros en neoplasias permitió detectar modificaciones de la longitud telomérica (LT), siendo escasos los datos en neoplasias linfoides. El objetivo de este trabajo fue efectuar el análisis de fragmentos de restricción terminal (TRFs) en médula ósea (MO) de pacientes con MM y MGUS. Se analizaron 19 MM: 7 al diagnóstico (D), 8 en recaída (R) y 4 en remisión (RM) y 2 MGUS. Se usaron controles de acortamiento telomérico (AT): línea celular K-562 (positivo) y sangre de cordón umbilical (CU, negativo) y controles normales (CN). El DNA fue digerido con HinfI y RsaI, efectuándose técnica de Southern blot. Se hibridó con sonda telomérica (TTAGGG)₇ marcada radiactivamente, evaluándose por densitometría la intensidad de bandas y determinando los TRFs como picos de máxima intensidad. Se usó test t' de Student para el análisis estadístico. Los TRFs de K-562 y CU fueron: 5,2±0,1Kb y 14,5±1,1Kb, respectivamente. Se observó AT significativo en MM: 5,9±0,5Kb respecto de CN: 8,5±0,5Kb (p<0,001). Se observaron TRFs similares al D (5,2±0,8Kb) y en R (5,8±0,8Kb), con menor AT durante la RM (7,2±0,4Kb) (p<0,05). Los TRFs de los pacientes con MGUS no diferían de los CN. Se observó correlación entre el incremento de AT y el porcentaje de infiltración de la MO (p<0,01) y asociación con anomalías cromosómicas. Los datos obtenidos sugerirían la participación del AT en el desarrollo del MM así como su utilidad como probable marcador tumoral en esta patología.

- 345. (1161) IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS MUTACIONES EN EL GEN DE LA TIROPEROXIDASA HUMANA. RIVOLTA CARINA, GRUÑEIRO-PAPENDIECK Laura, CHIESA Ana, DOMENE Sabina, VARELA Viviana, TARGOVNIK Héctor.**

Cátedra de Genética y Biología Molecular. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Bs.As. División Endocrinología. Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez.

Las causas del bocio congénito con hipotiroidismo se deben a defectos en los genes de Na⁺/I⁻ Symporter, tiroglobulina, pendrina y bloqueos de organificación producidos por defectos en la tiroperoxidasa (TPO) o en las proteínas implicadas en la generación de H₂O₂ (THOX1 y THOX2). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar nuevas herramientas diagnósticas para bocios congénitos con defectos en el gen de TPO e identificar nuevas mutaciones. Se estudió el ADN genómico de 15 pacientes no relacionados, con clínica compatible con bloqueo de organificación, por la técnica de SSCP. Se amplificaron por PCR los 17 exones de la TPO. Los productos fueron sometidos a electroforesis en gel de poliacrilamida y aquellos que presentaban migración diferencial respecto a los controles fueron secuenciados. Se identificaron dos nuevas mutaciones heterocigotas en los exones 8 y 14. La primera origina una sustitución de aspártico por treonina (transversión CxA en la posición 101 respecto al comienzo del exón 8). La segunda mutación conduce al cambio de cisteína por arginina (transición CxT en la posición 36 respecto al comienzo del exón 14). Se han identificado también dos nuevos polimorfismos en las posiciones +31 (CxT) y +44 (TxG) en los exones 4 y 16 respectivamente. Por otra parte se han encontrado cambios previamente publicados. Las nuevas metodologías desarrolladas aquí contribuirán al mejoramiento del diagnóstico de esta patología hereditaria recesiva de alta prevalencia.

INFECTOLOGÍA I

- 346. (416) AISLAMIENTO DE CEPAS DE VIRUS DE LA CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA (LCM) DE ROEDORES CAPTURADOS EN LA CIUDAD DE RÍO CUARTO.** SAAVEDRA MARÍA DEL CARMEN, RIERA Laura, CASTILLO Ernesto, SOTTOSANTI Josefina, SABATTINI Marta, AMBROSIO Ana.

Instituto Nacional de Enfermedades Virales humanas "Dr. Julio I. Maiztegui", Universidad Nacional de Río Cuarto

El virus LCM es el prototipo de la familia Arenaviridae y fue el primer miembro de este grupo reconocido como patógeno para humanos. El reservorio de este virus es el roedor *Mus domesticus*, un ratón que convive con humanos tanto en ambientes rurales como urbanos. Desde 1998 se conoce la actividad del virus LCM en la ciudad de Río Cuarto. El objetivo de este trabajo fue intentar el aislamiento del virus LCM de roedores *Mus domesticus*, con serología positiva para LCM, capturados en el área urbana de la ciudad de Río Cuarto. Entre 1998 y 2001 se capturaron 347 *Mus domesticus* de los cuales 55 presentaron Ac. anti LCM. Se realizó el intento de aislamiento de 14 cerebros disponibles de los 55 *Mus domesticus* positivos. La técnica aplicada fue inoculación de células L 929 con suspensión de cerebro del ratón a estudiar, incubación a 37°C durante 3 días, y siembra de las células en portas para Inmunofluorescencia (IF). Se realizó la prueba de IF enfrentando las células con líquido ascítico hiperinmune anti An 13065. Se consideró reacción positiva la aparición de gránulos citoplasmáticos fluorescentes en las células. Se aislaron dos cepas de virus LCM, las cuales fueron identificadas por prueba de neutralización (NT). Estos resultados permiten demostrar una activa circulación del virus LCM en la población de roedores *Mus domesticus* de la zona urbana de la ciudad de Río Cuarto, lo que indica un nivel de riesgo potencial de exposición de la población humana.

347. (443) UN MÉTODO CONFIABLE, NO CONVENCIONAL, DE PURIFICACIÓN DE DNA DE TROFOZOITOS DETERIORADOS DE DIENTAMOEBIA FRAGILIS A PARTIR DE MUESTRAS FECALES. MENGHI CLAUDIA, MAKIYA Ricardo, MENDEZ Oscar.

Dpto Bioquímica Clínica, Fac Farmacia y Bioquímica, UBA

Se presenta un método de purificación de DNA de trofozoitos deteriorados de *Dientamoeba fragilis* por medio de una técnica por columnas (spin-columns) a partir de muestras fecales congeladas no fijadas en formol, con elevadas concentraciones de inhibidores de la reacción de la polimerasa (PCR). La especificidad y sensibilidad de este ensayo se evaluaron por contraste con una técnica convencional de purificación de DNA seguida de amplificación y electroforesis de los amplicones. No se observaron productos de amplificación del DNA extraído de trofozoitos de muestras fecales recolectadas en soluciones conservadoras (formol, SAF). Tampoco se observó una amplificación satisfactoria con el DNA extraído de trofozoitos a partir de heces congeladas sin conservador sometido a una técnica de purificación convencional, debido a la presencia de inhibidores de la polimerasa en las heces. La especificidad queda demostrada por la presencia de *Blastocystis hominis* en las materias fecales, donde a pesar de tener una secuencia cercana a la de *D. fragilis*, no hubo amplificación. Nuestros hallazgos demuestran que esta metodología es efectiva cuando se trabaja con trofozoitos deteriorados de *D. fragilis*; donde el diagnóstico de rutina de este parásito -que existe sólo al estado de trofozoito- se vuelve problemático al trabajar con heces frescas o sin el conservador adecuado.

348. (488) RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA DE PACIENTES CON HIV-1 TRATADOS CON HAART. BALDO NATALIA, GIRAUDO Constanco, DIAZ Miguel, DAVID Daniel, LUNA Norma, MARTINS Marcelo, ROLAND Hugo, ZARATE Abel, ALVARE-LLOS Teresita.

Hospital Privado de Córdoba, Fundación para el Progreso de la Medicina, Hospital Rawson .

La terapia antirretroviral de alta eficacia (HAART) permite lograr una supresión prolongada de la replicación viral y una recuperación gradual de linfocitos CD4+ en pacientes con infección por HIV. Sin embargo, la supresión viral y recuperación inmunológica no son uniformes en todos los pacientes. Con el objetivo de correlacionar el grado de recuperación inmunológica con el nivel de supresión viral, se analizó la evolución de 71 pacientes con infección por HIV, con determinaciones de RNA HIV-1 (copias/mL) por RT-PCR (Amplicor HIV-1 Monitor, Roche) y linfocitos CD4+ (n. absoluto/mm³) por citometría de flujo (Coulter) antes y durante el tratamiento con HAART, durante un período de 24 meses. Los pacientes se dividieron en 2 grupos según el

comportamiento observado en los niveles de carga viral (CV). La tabla muestra los resultados:

	CD4 + Inicio	CV Inicio	CD4 + 6 meses	CV 6 meses	CD4 + 13 meses	CV 13 meses	CD4 + Final	CV Final
Grupo 1 (n=39)	454.08	224647.8	544.23	171.13	699.38	143.31	820.97	61.54
Grupo 2 (n=32)	305.9	249598.75	371.13	91877.19	338.91	102940.03	290.09	144787.16
	p=	p=	p=	p=	p=	p=	p=	p=
	0.0054	0.8127	0.0037	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Observamos que el grupo 1 disminuyó sus CV a niveles no detectables a los 6 meses del inicio del tratamiento, recuperando valores normales de linfocitos CD4+, mientras que el grupo 2 mantuvo valores constantemente elevados de CV sin recuperación inmunológica.

349. (916) RESULTADO PRELIMINAR DEL ENSAYO DE EFICACIA PROTECTORA DE VACUNA CANDID#1 PRODUCIDA EN EL INEVH "DR. JULIO I. MAIZTEGUI", PERGAMINO. SOTTOSANTI JOSEFA MARÍA, RIERA Laura, SAAVEDRA María del Carmen, AMBROSIO Ana María.

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui"

La vacuna Candid #1 contra la Fiebre Hemorrágica Argentina es un producto huérfano del que se han producido lotes piloto en USA, ya utilizados en ensayos clínicos en Argentina. Su tecnología de producción se transfirió al INEVH, donde se obtuvieron al presente 3 lotes experimentales. El objetivo de este trabajo fue estudiar en cobayos la protección conferida por el lote experimental N°3 de Candid #1 al desafío con la cepa letal P23790 de virus Junin (VJ), comparada con Candid #1 USA. Se utilizaron 90 cobayos Hartley, de 250-400g, que al día 0 se inocularon (intramuscular) con 0,5 ml de: I) Candid #1 Argentina (4,80 104 ufp/ml), II) Candid #1 USA (1,67 104 ufp/ml); ambas, en diluciones: S/D, 10-1, 10-2 y 10-3 (n=10/vacuna/dilución) y III) Suero fisiológico (n=10). Los animales fueron sangrados pre y post vacunación (pv) para determinar anticuerpos neutralizantes (AcNt) anti VJ por la técnica de neutralización en placas bajo agarosa. Ningún cobayo reveló AcNt pre vacunación. El día 70 pv los títulos fueron: I) 320 a =10.240, II) 40 a =10.240 y III) negativos. El día 95 pv fueron inoculados (intraperitoneal) con 766 ufp de la cepa P23790 y serán observados 90 días para detectar signos de enfermedad y/o muerte. Al día 39 post desafío, ninguno de los cobayos grupo I y II enfermó, mientras 9/10 ya han muerto en el grupo control. Estos resultados indican preliminarmente que Candid #1 Argentina, protege a cobayos adultos del desafío con VJ con idéntica eficacia que Candid #1 USA.

350. (923) PREVALENCIA DE TOXOPLASMOSIS EN PACIENTES HIV (+) DE LA PROVINCIA DE LA RIOJA. SALMASO NANCY, MERCADO Manuel, REYNOSO Cecilia, DIAZ BAZAN Judith, MONTIVERO Irene, CORDOBA Patricia.

Fundación Barcelo, Laboratorio Hospital "Dr. E. Vera Barros", Programa de ETS y SIDA.

La encefalitis por toxoplasma causa lesiones cerebrales en pacientes con SIDA, principalmente por reactivación. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de Toxoplasma en pacientes con HIV(+) de La Rioja. A partir de sueros de 41 pacientes se realizó la detección de los anticuerpos de tipo G específicos para toxoplasma por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). La IFI detecta anticuerpos contra antígenos de membrana considerándose positivos desde una dilución de 1/10. Los sueros también fueron ensayados por Hemaglutinación Indirecta (HAI). La prueba de HAI detecta anticuerpos contra antígenos citoplasmáticos, resultando positivos por encima de un título de 1/64. Títulos por encima de 1/2048 pueden corresponder a una infección evolutiva. El 61% de los pacientes estudiados tienen anticuerpos por IFI de los cuales el 40% posee títulos fuertes positivos. Solo 2 de ellos se correlacionan con una infección evolutiva por HAI pero no tuvieron clínica compatible

con esta infección en pacientes HIV(+). Existe una alta prevalencia de toxoplasmosis en pacientes HIV(+) de La Rioja. Muchos de los que presentan serología para toxoplasmosis pueden desarrollar Encefalitis por reactivación. Es importante la vigilancia serológica de ellos con una secuencia metodológica apropiada. Respecto a esto proponemos que si la prueba de IFI supera el título 1/200, el portador sano debe ser testeado por HAI para la vigilancia y diagnóstico precoz del paciente que evoluciona hacia una posible reactivación.

- 351. (1151) PATRÓN DE CIRCULACIÓN VIRAL EN INFECCIÓN RESPIRATORIA AGUDA BAJA.** VIEGAS MARÍANA, BURNA D. Victoria, BARRERO Paola, R, CARATZZOLO Ana María, MISTCHENKO Alicia, S.

Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires

El presente estudio analiza la etiología viral de la infección respiratoria aguda baja en niños hospitalizados menores de 2 años. Entre enero de 1998 y agosto de 2002 un total de 17679 aspirados nasofaríngeos fueron analizados por inmunofluorescencia indirecta para la detección de adenovirus (AV), virus sincicial respiratorio (VSR), influenza A (Inf A), influenza B (Inf B), parainfluenza 1,2,3 (PIV). Una parte de las muestras fue ampliada por cultivo en células o huevos embrionados. Los virus fueron tipificados por PCR-RFLP, RT-PCR, o con anticuerpos monoclonales. De un total de 17679 muestras 6040 fueron positivas: 4257 VSR (24%), 407 Inf A (2,3%), 313 PIV (1,8%), 286 AV (1,6%) y 13 InfB (0,07%). En el año 1999 cocircularon los subtipos A y B del VSR, en el 2000 solo detectamos circulación del subtipo A cuyo predominio fue mantenido durante el año 2001. En el año 2002 reapareció el subtipo B predominando ligeramente sobre el A. Con respecto a Influenza A la caracterización se hizo a partir del año 2000 en el que detectamos sólo la circulación del subtipo H1N1, en el año 2001 el subtipo H3N2 y durante el presente año no hemos detectado circulación de Inf A. En todos los años analizados se detectó el predominio subgénero de AV B cluster 1 sobre el C. El PIV de tipo 3 predominó en el año 2002. En los años analizados observamos un patrón estacional predecible y secuencial de etiología viral predominante, mostrando un fenómeno de exclusión de un agente sobre otro.

- 352. (1154) IDENTIFICACION POR PHAGE DISPLAY DEL EPITOPE CONFORMACIONAL LHKTSXS DEL HEXÓN DE ADENOVIRUS TIPO 3.** CASABONA JUAN CRUZ, BARRERO Paola Roxana, MISTCHENKO Alicia Susana.

Hospital de Niños R. Gutierrez, Buenos Aires

Los adenovirus humanos (Ads) comprenden 51 serotipos, divididos en 6 subgéneros (A-F). La cápsida posee 3 proteínas: pentón, base del pentón y hexón. Los epítopes tipo específicos se encuentran distribuidos en 7 regiones hipervariables (HVRs), contenidas en 2 loops del hexón. En el presente estudio, se utiliza una biblioteca de fagos que expresan hexámeros al azar (RPL), para descubrir epítopes mediante un anticuerpo monoclonal (Mab 8048) producido contra el hexón de Ad 3 (subgénero B). La técnica, denominada "paneó", consistió en incubar la RPL con bolillas paramagnéticas cubiertas con proteína G, unidas al Mab 8048. El fago no unido, se retiró, y el fago unido en forma específica se eluyó para su amplificación y posterior paneo sucesivo. Luego de tres rondas, se secuenciaron 9 clones, que mostraron la secuencia consenso LHKTSXs. La comparación del epítope LHKTSXs con las secuencias correspondientes al hexón de diferentes serotipos de Ads, no pudo alinearse linealmente con el epítope encontrado. Debido a que los epítopes serotipo específicos se encuentran en las HVRs de los loops (L1, 182 residuos, y L2, 47 residuos), se analizó la relación entre los mismos, inter subgénero (A-F) e intra subgénero B (serotipos: 35, 34, 21, 7, 3 y 16) encontrando que el epítope no es discontinuo, y por lo tanto, sería conformacional. Asimismo, se confirmó mediante gráficos de similitud que la variabilidad del hexón en su totalidad es inferior a la de los loops.

- 353. (1162) INHIBICIÓN "IN VITRO" EJERCIDA POR LACTOBACILLUS PLANTARUM SOBRE FACTORES DE VIRULENCIA**

SECRETADOS POR PSEUDOMONA AERUGINOSA. VALDEZ JUAN, PERAL M. Cristina, RACHID Mirta, PERDIGÓN Gabriela.

Cátedra de Inmunología, Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT. Cátedra de Biología, Fac. de Medicina. U.N.T CERELA-CONICET

P. aeruginosa libera factores implicados en su patogenicidad. Objetivo: estudiar el efecto que sustancias tales como Tween 80 (t), medio MRS, cultivo total (T), filtrado ácido (FA), y neutro (FN) y suspensión de L. plantarum (Lp) ejercen sobre biofilm, elastasa y acil-homoserin-lactonas (AHL) producidos por P. aeruginosa. Métodos: P. aeruginosa fue cultivada con las sustancias mencionadas por 1 y 7 hs. en placas de PVC y coloreadas con cristal violeta para revelar el biofilm. Filtrados de cultivos de P. aeruginosa con las sustancias de 1 y 24 hs. fueron ensayados para Elastasa usando el sustrato elastina-rojo congo. Mezclas de sobrenadante de P. aeruginosa con las sustancias (directa) así como los filtrados de 1 hora arriba mencionado (síntesis) se incubaron con cepas mutantes sensibles a AHL, que expresan el reporter Lac-Z (qsc) midiendo B-galactosidasa por la reacción de Miller. Los filtrados marcado con () fueron neutralizados después del cultivo con Ps aeruginosa. Resultados: el porcentaje de inhibición fue:*

___|FA___FN___T___MRS___t___Lp
B1___|57___;33___;82___;28___;ND___;19
B7___|87___;20___;89___;40___;22___;31
E___|ND___;42___;58*___;19___;20___;ND
C___|90___;78___;90___;87___;65___;ND
AD___|60*___;35___;76*___;ND___;42___;40
AS___|62*___;42___;54*___;29___;32___;ND

B1=biofilm 1h; E=elastasa; C=crecimiento; AD=AHL directa; AS=AHL síntesis B7:biofilm 7hs. Conclusiones: L. plantarum inhibe el crecimiento de P. aeruginosa y la producción de sus factores de virulencia ensayados.

- 354. (1163) ANÁLISIS DE LA SECUENCIA COMPLETA DE LA POLI-PROTEÍNA DE LOS VIRUS DENGUE 1 AISLADOS EN BUENOS AIRES.** BARRERO PAOLA, MISTCHENKO Alicia.

Laboratorio de Virología. Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires

El virus dengue pertenece a la Familia Flaviviridae transmitido por mosquitos. Durante los años 1998-99 se reportaron epidemias de Dengue en países limítrofes, la última en Paraguay. De este brote se tomaron tres pacientes que viajaron desde Paraguay a Buenos Aires, diagnosticados mediante IgM anti Dengue y RT-PCR como Dengue serotipo 1. Estos virus fueron aislados en células C6/C36. Se diseñaron primers específicos para secuenciar directamente la poliproteína completa de 10176 pb. Los 3391 aminoácidos deducidos codifican 3 proteínas estructurales (C, M, E) y 7 no estructurales (NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5). El porcentaje G+C encontrado fue de 0.463 y se detectó un leve sesgo en el uso del codón (0.272+/-2), preferencialmente en sitios sinónimos. Las variaciones encontradas a nivel nucleotídico fueron <3.11% y a nivel aminoacídico <1.38%. Se registraron 440 sustituciones de las cuales 61 fueron no sinónimas. Los reemplazos de aminoácidos se hallaron principalmente en NS5 (16/61), E (13/61) y NS1 (10/61). Dentro de la proteína E el motivo consenso de unión a heparan sulfato del complejo Dengue 310KEVAE314 se conservó en todas las muestras y se localizaron 7 de los 11 sitios putativos de recombinación. El análisis filogenético del extremo 5' de la proteína E permitió agrupar a todos los virus como Dengue-1 Genotipo II (Brazil 90). El cociente W (no sinónimas/ sinónimas) resultó <1 (=0.16) indicando que un mecanismo de selección purificadora operó sobre esta poliproteína.

INMUNOLOGÍA VIII

- 355. (477) RANTES Y CCR5 EN TRASPLANTE RENAL ALOGENEICO HUMANO.** RACCA ANDREA, BAILAT Alejandra, QUIROGA Florencia, GARCIA Ines, SOUTULLO Adriana, GAITE Luis, MALAN BOREL Ileana.

Cát. de Inmunología - Fac. de Bioq. y Cs. Biológicas - Universidad Nacional del Litoral Clínica de Nefrología y Urología-Santa Fe; Lab Inmunogenética-Hospital de Clínicas-Univ de Bs As

Las quemoquinas a través de su interacción con sus receptores específicos han sido asociadas a diferentes desórdenes inflamatorios. A efectos de analizar la participación de RANTES y CCR5 en el alotrasplante renal humano se evaluaron, mediante ELISA, los niveles séricos de dicha citoquina y mediante citometría de flujo, la expresión de su receptor en LT CD4 y CD8 obtenidos de sangre periférica, provenientes de pacientes con rechazo crónico (RC) (n=4), buena evolución del injerto (BE) (n=6) y en individuos sanos no trasplantados (C) (n=6). Los resultados mostraron una disminución en los niveles séricos de RANTES y en la expresión de CCR5 en LT en pacientes trasplantados respecto al grupo C ($p < 0.05$); no habiéndose observado diferencia entre RC y BE ($p > 0.05$). Los valores hallados de RANTES (pg/ml) fueron: 68878 ± 5471 (RC), 57224 ± 4854 (BE), 121859 ± 10044 (C) y de CCR5 (%): CD4, 1.35 ± 0.05 (RC), 2.70 ± 0.64 (BE), 10.78 ± 2.01 (C); CD8, 5.14 ± 0.57 (RC), 4.02 ± 0.55 (BE), 15.51 ± 2.86 (C). Los niveles séricos de RANTES así como la expresión de CCR5 en LT de sangre periférica no serían indicadores de la evolución del injerto renal humano.

- 356. (534) ALTERACIONES FUNCIONALES DE LOS NEUTRÓFILOS (PMN) EN PACIENTES CON SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO (SUH). INFLUENCIA DE FACTORES SÉRICOS.** FERNÁNDEZ GABRIELA C, RUBEL Carolina J, GOMEZ Sonia, DRAN Graciela I, BARRIONUEVO Paula, EXENI Ramón, GRIMOLDI Irene, ALDUNCIN Marta, ISTURIZ Martin, PALERMO Marina S.

Academia Nacional de Medicina, Hospital del Niños, San Justo, Buenos Aires

El SUH es la principal causa de insuficiencia renal aguda en niños. La neutrofilia se asocia a un mal pronóstico y los PMN están involucrados en la fisiopatología del SUH. Anteriormente, demostramos que los PMN de pacientes con SUH presentan una disminución en la expresión del CD11b, CD16, la mieloperoxidasa, la respuesta citotóxica y de degranulación. Si bien estas evidencias sugerían un parcial agotamiento, el objetivo fue profundizar este análisis investigando otras funciones y la existencia de factores séricos moduladores de la función de los PMN. Se determinó el % de apoptosis por anexina V/ioduro de propidio y la generación de intermediarios reactivos del oxígeno (IRO) con dihidrorodamina (DHR) en PMN de pacientes (SUH; n=7), niños sanos (S; n=5) y con neutrofilia no relacionada al SUH (N; n=8). Los SUH mostraron una disminución significativa ($p < 0.05$) en el % de PMN apoptóticos tempranos (SUH=11.1+2.6, S=21.5+3.2, N=19.2+2.2) y en la producción de IRO (IMF DHR: SUH=26.3+8.7, S=82.9+20.4, N=53.5+7.1). Para evaluar los factores séricos se incubaron PMN de adultos normales con plasmas de pacientes y controles y se determinó la producción de IRO y la degranulación por TNF, sin encontrar diferencias. La disminución en la producción de IRO y la respuesta de degranulación de los PMN de los SUH no se debería a la presencia de factores séricos, ni a un aumento de la apoptosis, siendo características propias de los PMN y sugiriendo un estado de post-activación con parcial agotamiento.

- 357. (586) INFECCIÓN DISEMINADA POR BCG Y MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS (NTM): DEFICIENCIAS EN LA VÍA IFN GAMMA/IL12.** KRASOVEC SILVIA, OLEASTRO Matías, BERNASCONI Andrea, ROSENZWEIG Sergio, CASIMIR Lidia, ZELAZKO Marta.

Servicio de Inmunología, Hospital Garrahan, Buenos Aires

Las deficiencias primarias en la vía IFN γ /IL12 condicionan mayor susceptibilidad a infecciones diseminadas por BCG y NTM. Describimos 4 pacientes BCGizados al nacimiento con defectos primarios en esta vía. Material y métodos: 1) Identificación microbiológica: directos por Ziel Nielsen y técnica de Auramina; cultivos en medios líquidos y sólidos. 2) IFN γ R1: SSCP y secuenciación directa. 3) IL12B1R: citometría de flujo. Ref. tabla: Edad diagnóstico: de infección diseminada; Enf. regional: úlcera

persistente/absceso/adenitis axilar; LG: lav.gástrico, HC: hemocultivo, UC: urocultivo, CC: coprocultivo, GL: ganglio linfático, SB: secreción bronquial

	1ra Manifestación	Edad diagnóstico	Ger-men	Aisla-miento	Tratamiento	Evolución	D. Molecular
P1	5m Enf. regional	17 m	BCG/M. avium	Reg-LG-HC-UC-CC-GL	AntiTBC+rIFN γ	Progresión. Muerte: 3a	IFN γ R1
P2	6m Enf. regional	8 a	BCG	Reg-SB-GL	AntiTBC+rIFN γ	Estable 13a	IL12B1R
P3	1m Enf. regional	8 m	BCG	Reg-LG-HC-CC-GL	AntiTBC+rIFN γ	Curada 4a	IL12B1R
P4	3m Enf. regional	17 m	BCG	Reg-LG-GL	AntiTBC+rIFN γ	Estable 3a	IL12B1R

Conclusiones: Primeros 4 pacientes en el país con infección diseminada por BCG/NTM y defectos en la vía IFN γ /IL12. Toda enfermedad regional debe motivar la búsqueda sistemática de BCG en diferentes fluidos y/o tejidos comprometidos. El estudio de la vía IFN γ /IL12 debe ser realizado en todo paciente con infección diseminada por BCG/NTM idiopática.

- 358. (601) INTERVENCIÓN DE LA PROTEÍNA CC10 DE LAS CÉLULAS PULMONARES DE CLARA EN EL ASMA.** ROTH FÉLIX, AOKI Agustín, MALDONADO Cristina.

Centro de Microscopía Electrónica Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Introducción: La célula de Clara del epitelio bronquiolar produce la proteína CC10 con propiedades anti-inflamatoria y moduladora de citoquinas proinflamatorias. Objetivo: Determinar la respuesta de la célula de Clara en el asma y la relación entre la proteína CC10 y la fisiopatología del asma. Materiales y métodos: Ratones hembra (cepa BALB/c), sensibilizados con ovalbúmina por vía i.p. seguido de exposición inhalatoria. Se usaron 3 modelos de exposición al alérgeno: agudo, con 6 días continuos de tratamiento; prolongado, durante 73 días en forma discontinua, y prolongado combinado con exposición a un corticoide inhalado (budesonida) previo a la exposición al alérgeno. Se analizaron los niveles de CC10 por western blot (wb), dot blot e inmunohistoquímica, y se analizó la morfología celular a nivel óptico y electrónico. Resultados: En ambos modelos de exposición se observó un aumento significativo (T-test) de CC10 con respecto al control tanto por inmunocitoquímica, WB y Dot Blot. En estrecha correlación, se observó infiltrado inflamatorio en la mucosa, epitelio bronquiolar más alto que en el control, con células de Clara muy estimuladas conteniendo gránulos secretorios más grandes y claros. La budesonida evitó dichos cambios. La célula de Clara se activa en modelos asmáticos con aumento de la secreción de CC10, el cual es impedido por la budesonida probablemente al evitar el incremento de citoquinas proinflamatorias, potentes estimuladores de la secreción de esta proteína.

- 359. (602) ESTUDIOS DE LA VÍA DEL INTERFERÓN GAMMA (IFN γ) / INTERLEUQUINA 12 (IL12) EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL BACILO DE LA VACUNA BCG.** BERNASCONI ANDREA, ROSSI Jorge, KRASOVEC Silvia, SOMARDZIC Albina, RIBAS Alejandra, OLEASTRO Matías, ROSENZWEIG Sergio, ZELAZKO Marta.

Servicio Inmunología, Hospital Garrahan, Buenos Aires

Defectos en la inmunidad mediada por IFN γ /IL12 generan susceptibilidad a infecciones por micobacterias no tuberculosas o BCG. A la fecha se han descrito mutaciones en 5 genes: cadena R1 y R2 del receptor de IFN γ , subunidad p40 de IL12, cadena b1 del receptor de IL12 (b1RcIL12) y STAT1, activador y transductor de transcripción. Evaluamos por citometría de flujo la expresión y funcionalidad de moléculas involucradas en esta vía en 3 pacientes con BCG diseminada, donde se sospechó defectos de la vía IFN γ /IL12 después de descartar otras inmunodeficiencias. Se estudió: 1) fosforilación de STAT1 por IFN γ r (recombinante) 2) expresión de IL12 citoplasmática en monocitos activados con LPS/IFN γ r 3) expresión de b1RcIL12 en linfocitos activados con PHA/

IL2 y 4) fosforilación de STAT4 por IL12 r e IFN alfa r (IFN α) vía sus receptores. En los 3 pacientes la fosforilación de STAT1 fue mayor al 90% en monocitos, descartando defectos del receptor de IFN γ . La expresión de IL12 fue: P1:12%, P2:35% y P3:18%, descartando defectos de p40. En los 3 casos no se observó expresión de b1RcIL12 y la funcionalidad del receptor evaluada por fosforilación de STAT4 con IL12 fue 0% contra un 70% de la mediada por IFN α , confirmando el defecto de esta vía. La evaluación de la expresión y funcionalidad de moléculas involucradas en la vía IFN γ /IL12 permitió identificar el defecto en el RcIL12 mostrando la utilidad de estos estudios en el diagnóstico de inmunodeficiencias PriMarias con infección por micobacterias.

360. (612) HALLAZGOS EN BIOPSIA RENAL DE PACIENTES LUPICO CON Y SIN ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDOS. PACHECO GONZALO, ALBA P, KARIM Y, BERTOLACCINI L, KHAMASHTA Ma, HUGHES Grv.

Hospital Carlos Gustavo Durand - Unidad Inmunología Lupus Research Unit, The Rayne Institute, St Thomas' Hospital, London, UK.

La afección vascular renal es un rasgo prominente del Síndrome Antifosfolipídico (APS). Objetivo: Evaluar retrospectivamente hallazgos histopatológicos en 26 pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (SLE) y afección renal. Grupo I: 13 pacientes con SLE y aPL (+) en forma persistente, Grupo II: 13 pacientes con SLE y aPL (-) persistentemente. Biopsia renal realizada en todos los pacientes. Muestras procesadas y analizadas por microscopía óptica y coloración de hematoxilina/eosina, tinción de plata e inmunoperoxidasa. Resultados: Sin diferencias estadísticamente significativas entre grupos con respecto a: Engrosamiento fibroso de la íntima, fibrosis intersticial y atrofia tubular (38% vs. 46%; 69% vs. 62% y 69% vs. 77%). Depósito de inmunocomplejos presente en G I :10/13 y en todos los pacientes del G II. Esclerosis glomerular global en 72.7% de los pacientes del G I y en 54% del G II. Hiperplasia fibrosa de la íntima arterial con proliferación celular miofibroblástica intensa en 23% de los pacientes del G I y ausente en pacientes del G II. Microangiopatía trombótica sólo en pacientes del Grupo I localizado en: arterias (23%), arteriolas (15%) y capilares glomerulares (38%). Lesión de "Doble contorno" en 27% de las biopsias, con mayor frecuencia en el grupo aPL (+) que en el grupo aPL (-) (38% vs. 15%). La Microangiopatía trombótica e Hiperplasia fibrosa de la íntima son un hallazgo común en pacientes con SLE, afección renal y tests positivos para aPL.

361. (682) ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILOS (ANCA) Y ENFERMEDADES ASOCIADAS. MOTTA ESTELA, FANJUL Valeria, COSTE Eduardo, LATORRE Mirian.

Hospital Oscar Alende, Mar del Plata. Servicio de Laboratorio. Unidad de Nefrología y Diálisis

Objetivo: Determinar la asociación de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) con diferentes entidades clínicas que se presentan en nuestro medio. Materiales y Métodos: Se analizaron 421 sueros de pacientes en un periodo de 6 años. Los sueros fueron analizados por inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre improntas de neutrófilos fijados con Etanol y Formol. Para la detección de anticuerpos anti-MPO y anti-PR3 se realizó enzimo-inmunoanálisis. Se revisaron y analizaron las Historias Clínicas de los pacientes en estudio. Resultados: De los 421 sueros analizados, 42 (10%) fueron positivos para ANCA. Se observó patrón pANCA en 26 sueros (62%), cANCA en 7 (17%) y xANCA en 9 (21%). En 12 de las 42 muestras reactivas por IFI se estudió la especificidad antigénica por ELISA, de los cuales 8 fueron reactivas (2 con PR3, 6 con MPO). En la Granulomatosis de Wegener 3 de 3 fueron reactivas, 2/3 PR3 y 1/3 MPO. Uno de los pacientes con glomerulonefritis rápidamente progresiva presentó un resultado positivo para MPO con presencia de pANCA por IFI. Conclusiones: Las vasculitis sistémicas contribuyeron en el mayor porcentaje a la aparición de del patrón xANCA (33%) La aparición del patrón xANCA estuvo relacionada con resultados negativos para MPO y PR3. La presencia del

patrón cANCA y PR 3 se asoció únicamente con la presencia de granulomatosis de Wegener.

362. (726) SÍNDROME DE HIPER IGE: ASPECTOS CLÍNICOS E INMUNOLÓGICOS EN UNA POBLACIÓN PEDIÁTRICA. RAIDEN SILVINA (1,2), CANTISANO Claudio (1), GADDI Eduardo (1), BALBARYSKI Jeanette (1), NAHMOD Karen (2), QUIROZ Héctor (1), GEFFNER Jorge (2), GIRAUDI Vera (1).

(1) Div. Inmunología Hosp. de Pediatría P. de Elizalde (2) IIHEMA, Acad. Nac. de Medicina, Buenos Aires

El síndrome de hiper IgE (SHIgE) es una inmunodeficiencia rara caracterizada por infecciones en piel y niveles elevados de IgE. Describimos la experiencia clínica y de laboratorio en 9 niños con diagnóstico posible o probable de SHIgE, valorados según el score de Grimbacher (período 2000-2002). Los hallazgos clínicos más significativos fueron: IgE mayor de 2000 UI/ml: 8/9, eczema: 8/9, comienzo en menores de 1 año: 7/9, eosinofilia: 7/9, facies peculiar: 6/9, patología pulmonar: 4/9, dientes primarios retenidos y paladar alto: 3/9, infecciones graves: 2/9, candidiasis, escoliosis e hiperextensibilidad articular: 1/9. La edad promedio del diagnóstico fue de 6 años. Dado que los antecedentes infecciosos en estos pacientes no se explicarían sólo por el perfil TH2 predominante en los mismos, analizamos posibles alteraciones fenotípicas en neutrófilos y eosinófilos. Empleando anticuerpos contra un amplio panel de marcadores, encontramos una franca disminución en la expresión de: A) CD15 en neutrófilos: intensidad media de fluorescencia (IMF) = 786 \pm 67 vs 1951 \pm 173, pacientes vs controles, n=9, P<0.01 y B) CD25 en eosinófilos: IMF = 35 \pm 2.7 vs 55 \pm 3.7, pacientes vs controles, n=9, P<0.05. Nuestras observaciones clínicas destacan la edad temprana de aparición del SHIgE en la población local. Por otra parte, la expresión disminuida de CD15 podría comprometer la actividad inflamatoria de los neutrófilos en el foco infeccioso favoreciendo su desarrollo.

363. (848) LA RESPUESTA TH1 INDUCIDA POR INMUNIZACIÓN CON AG163B6/CRUZIPAINA Y ODN-CPG SE MANTIENE LUEGO DEL DESAFÍO CON TRIPOMASTIGOTES DE T. CRUZI. CAZORLA SILVIA INÉS, MUÑOZ Marina Cecilia, FRANK Fernanda María, PETRAY Patricia, CORRAL Ricardo, MALCHIODI Emilio Luis.

Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU) CONICET-UBA, Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires

Experimentos previos demostraron que la inmunización de ratones con Ag163B6/cruzipaina de T. cruzi y ODN-CpG, confiere inmunidad protectora contra la infección aguda por T. cruzi. La respuesta de tipo Th1 se caracterizó por: altos títulos de IgG2a a-Ag pero no IgG1, secreción de IFN γ e IL2 y proliferación de esplenocitos frente al Ag. El objetivo de este trabajo fue analizar si el efecto polarizado Th1 de esta respuesta se mantenía o era revertido luego del desafío con el parásito. Se inmunizaron ratones C3H con 2 dosis im de Ag con ODN-CpG. A los 15 días post inmunización, el 50% de los ratones (RI) fueron sacrificados y los restantes fueron desafiados (RD) con 500 tripomastigotes. Al mes de negativizar la parasitemia (90 dpi) se sacrificaron y se cultivaron los esplenocitos. Los niveles de IFN γ en sobrenadantes de esplenocitos estimulados con el Ag fueron similares en los RI=323,0 \pm 182,4 pg/ml y RD=369,5 \pm 60,0 pg/ml. La secreción de IL2 de RD (10,1 \pm 3,8 pg/ml) fue menor a los RI=160,1 \pm 80,2 pg/ml, aunque superiores a los ratones normales (3,0 \pm 2,6 pg/ml). Los títulos de Acs por ELISA y la relación IgG1. Concluimos que la respuesta polarizada Th1 lograda por inmunización del Ag163B6 y ODN-CpG como adjuvante no se revierte al desafiar con T. cruzi.

364. (850) ATAXIA TELANGIECTASIA, CARACTERÍSTICAS CLÍNICO INMUNOLÓGICAS EN 25 PACIENTES. MENARD DENISE, KRASOVEC Silvia, ROSSI Jorge, ROY Adriana, GALLEGO Marta, ZELASCO Marta, OLEASTRO Matías.

Hospital de Pediatría J.P. Garrahan Servicio de Inmunología - Laboratorio de Citogenética Hosp. de Pediatría J.P.

Garrahan, Buenos Aires

A-T es una inmunodeficiencia primaria autosómica recesiva que presenta ataxia cerebelosa, telangiectasias oculocutáneas, inmunodeficiencia e inestabilidad cromosómica. Describimos características clínico - inmunológicas de 25 pacientes pediátricos con A-T. Resultados: 15 mujeres 10 varones. La edad media de presentación fue 1.44 años (r: 0.6 - 2.5) siendo Ataxia la manifestación más frecuente (22/24). Edad media al diagnóstico: 6,23 años (r: 1.9 - 15). Hallazgos clínicos en la evolución: ataxia 100 %, telangiectasias 92 %, otras manifestaciones neurológicas 56 %, infecciones recurrentes de vías aéreas 48 %, enfermedad pulmonar crónica 28%. Laboratorio: alfafetoproteína elevada 21/23; linfopenia 14/25, CD3 (< a Pc25) 19/23; CD4 (< a Pc25) 19/23; IgG (< 2DS) 3/25; IgA (< 2DS) con déficit de IgA 1/25; déficit de IgA (< 7mg%) 10/25. Deficiencia de Ac. contra Ag. polisacáridos 14/14. Deficiente proliferación linfocitaria a mitógenos 16/21. Alteraciones cromosómicas en 7/16 (principalmente en cromosomas 7 y 14); aumento significativo de rupturas cromosómicas inducidas por radiación 11/15. Desarrollo de tumores: 2 linfoma y 1 con "ATCP" (proliferación clonal en A-T). 3 fallecieron: 1 por hemorragia intracraneana y 2 por insuficiencia respiratoria). Se encontró dilación en establecer diagnóstico con respecto a la edad de primera manifestación clínica. Las manifestaciones clínicas no difieren de las publicadas para AT. Se destaca un paciente con ATCP, proliferación clonal en AT.

- 365. (899) INMUNIZACIÓN CON EL GEN P28 DE TRYPANOSOMA CRUZI.** GRIPPO VANINA, GHIO Sergio, HONTEBEYRIE Mireille, LEVIN Maríano, LEVITUS Gabriela.

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Departamento de Inmunología, Instituto Pasteur, Paris, Francia

Demostremos previamente que los pacientes con Enfermedad de Chagas crónica desarrollan una fuerte respuesta humoral contra el extremo C-terminal de la proteína ribosomal P28 de Trypanosoma cruzi (TcP28). Estos anticuerpos (acs) ejercen un efecto cronotrópico positivo sobre cardiocitos a través de la estimulación del receptor β 1-adrenérgico (β 1-AR). Aquí empleamos la inmunización con ADN como una estrategia alternativa para la inducción de acs anti-TcP28 que reflejen la respuesta que ocurre en la infección. Luego de la inmunización de ratones con el plásmido pcDNA3/TcP28 se detectaron acs que reconocen únicamente epítopes internos de la proteína y que no poseen actividad funcional, medida como incremento de los niveles de AMPc de células COS-7 trasfectadas con el gen β 1-AR. Consecuentemente, los ratones no presentaron alteraciones electrocardiográficas. Por el contrario, los ratones infectados crónicamente o inmunizados con la proteína recombinante mostraron alteraciones en sus ECGs asociadas a la presencia de acs dirigidos contra la región C-terminal de TcP28 y capaces de aumentar los niveles de AMPc de las células trasfectadas. Estos datos muestran que los acs anti-TcP28 inducidos por inmunización con ADN son diferentes en especificidad y actividad funcional a los producidos en la infección. Más aún, es posible inducir una respuesta anti-TcP28 "no auto-reactiva" mediante esta estrategia, la cual podría servir como base para el desarrollo de vacunas anti-T. cruzi.

- 366. (900) LA INMUNIZACIÓN CON CÉLULAS PATERNAS SE ASOCIA CON EMBARAZOS EXITOSOS EN MUJERES INFERTILES CON FRACASOS REITERADOS A LA FERTILIZACIÓN IN VITRO.** BILOS MARÍA ALEJANDRA, RAMHORST Rosana, FAINBOIM Leonardo.

División Inmunogenética-Hospital de Clínicas, Buenos Aires

Previamente demostramos que la inmunoterapia parental (IP) mejora la tasa de embarazos exitosos en mujeres con abortos recurrentes espontáneos (ARE). Aquí se investigó la utilidad de este tratamiento en mujeres infértiles con reiterados fracasos a la fertilización in vitro. Se analizaron 2 grupos: (a) constituido por 29 mujeres (X 35 años; rango 26-44) que recibió IP y (b) constituido por 11 mujeres (X 38 años; rango 31-45) que no recibió IP. Se descartó trastornos de coagulación y otras causas de infertilidad, pero se incluyó pacien-

tes con endometriosis. La IP consistió en 1 inyección de 120 x 10⁶ (6) mononucleares paternos cada 30 días (total 5 o hasta la inducción de actividad bloqueante del cultivo mixto linfocitario). En el grupo (a) 14 de 29 mujeres lograron un embarazo exitoso (48.27 %). De éstas, 8 (57 %) lo lograron luego de un nuevo FIV-ICSI; 4 pacientes (28.6%) lograron un embarazo espontáneo, 1 paciente (7.14%) post-ovodonación y 1 paciente (7.14%) por inseminación artificial. Dentro de este grupo, solo 2/8 pacientes con endometriosis lograron un embarazo exitoso (25%). En el grupo sin IP sólo 1 paciente logró un embarazo espontáneo exitoso (9%) y 10 pacientes no lograron nuevo embarazo (90.9%, P=0.03). La inmunoterapia parental podría no sólo generar un micro-ambiente adecuado para evitar el rechazo semi-alogénico sino también favorecer la implantación embrionaria. La endometriosis constituiría un factor que disminuye la tasa de éxito de este tratamiento.

- 367. (921) ESTADOS HIPERTENSIVOS DEL EMBARAZO Y SU ASOCIACIÓN CON LOS ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA.** HARO MARÍA ISABEL, GOMEZ PONCE DE LEON Rodolfo, VALDEZ Juan Carlos

Biología, Universidad Nacional de Tucumán

Los estados hipertensivos del embarazo causan alta morbimortalidad fetal y neonatal. Previamente se han estudiado los tipos de Hipertensión Gestacional en nuestra población (Gómez Ponce de León, 1994) estableciendo las proporciones en embarazadas y los resultados perinatales. Objetivo. Relacionar la hipertensión gestacional y los resultados perinatales, con la presencia de anticuerpos aCL. Metodología. Modelo Clínico de cohortes, con muestreo intencional de pacientes embarazadas hipertensas y al azar de embarazadas sanas: 61 pacientes Control, 34 Hipertensa crónica, 47 Pre-eclampsia Leve, 43 PE Severa y 15 PE Sobreimpuesta. Análisis estadístico: ANOVA DE MEDIDAS REPETIDAS. Métodos. Anticuerpos Anti-Cardiolipina (IgG e IgM) por ELISA indirecta (Alcocer Varela, México DF). Resultados. Plaquetopenia, proteinuria y uricemia elevada se asoció a hipertensión severa y resultados perinatales adversos; IgG aCL positiva en pacientes HTA: 22 % (control: 0%).

aACL en UI/ml	CONTROL	CRONICA	PE LEVE	PE SEVERA	PE SOBRE
IgG>20	0	10	67	16	26
IgM>20	1	46	21	37	46
MUERTE FETAL	1	5	2	30	26

Conclusiones. 1) PE Severa y Sobreimpuesta presenta los peores resultados perinatales. 2) Proponemos realizar anti- β 2GPI.

- 368. (985) CUANTIFICACIÓN POR PCR EN TIEMPO REAL DEL VIRUS DE EPSTEIN BARR (EBV) EN SANGRE PERIFÉRICA DE PACIENTES TRANSPLANTADOS.** YANCOSKI JUDITH, DANIELIAN Silvia, ZELAZKO Marta, NIESTERS Hubert.

Servicio de Inmunología. Hospital de Pediatría Prof. Dr Juan P. Garrahan, Buenos Aires. Departments of Virology and Haematology, University Hospital Rotterdam, The Netherlands

En pacientes transplantados EBV es el principal factor predisponente para el desarrollo del síndrome linfoproliferativo (SL). El monitoreo de la carga viral en sangre periférica (SP) permitiría detectar pacientes en riesgo de desarrollar el SL. Objetivo: establecer un estudio molecular cuantitativo de EBV para el seguimiento de pacientes transplantados. Metodología: se cuantificaron 347 muestras de ADN de pacientes transplantados por PCR en tiempo real (sondas Taqman). La relación lineal entre el número de copias de EBV y el parámetro Ct (threshold cycle) permitió mediante un standard de N° de copias conocido construir una curva de calibración y determinar cantidad de EBV presente en las muestras. Resultados: De 302 muestras de pacientes sin SL el 48% fueron positivas para EBV y 52 % negativas con una mediana para la carga viral de 50 copias/100UI SP. De las 37 muestras de pacientes con SL el 97.3% resultaron positivas y sólo el 2.7% negativas con una mediana de 1.91E4 copias/100UI SP. Para la comparación de

medianas se aplicó el test Mann Whitney siendo éstas significativamente diferentes ($p < 0.001$). Estos resultados preliminares indican que la PCR en tiempo real es la metodología de elección para la cuantificación de EBV (rango de linealidad, ahorro de tiempo, mínima contaminación)-existe una relación entre carga viral y parámetros clínicos-el estudio de un mayor N° de muestras permitiría establecer un valor de corte para detectar pacientes en riesgo de desarrollar SL

- 369. (997) DIAGNÓSTICO DEFINITIVO DE HIM (SÍNDROME DE HIPER IGM): ESTUDIO DE LOS GENES CD40L Y AID.** DANIELIAN SILVIA, PRIETO Emma, OLEASTRO Matias, ROSENZWEIG Sergio, RIVAS Eva María, CANTISANO Claudio, ZELAZKO Marta.

Servicio de Inmunología, Hospital de Pediatría Prof. Dr Juan P. Garrahan. Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Hospital Pedro de Elizalde, Buenos Aires

HIM es un grupo heterogéneo de patologías caracterizadas por un valor normal o elevado de IgM pero niveles bajos de IgG, IgA e IgE. La mayoría presenta la forma recesiva ligada al X (HIM-X) debida a mutaciones en el gen CD40L. Recientemente se describió una forma autosómica recesiva debida a mutaciones en el gen AID. Si bien los hallazgos clínico-inmunológicos proveen información válida para el diagnóstico, el estudio de mutaciones es el método más fidedigno para el diagnóstico definitivo. En 13 pacientes analizamos mediante SSCP los genes de CD40L y AID. En 11 de ellos pudimos detectar alteraciones y la secuenciación de los exones aberrantes permitió confirmar en 9 de ellos (pertenecientes a 6 familias no relacionadas) mutaciones compatibles con patología. En 2 hermanos la alteración correspondía a un polimorfismo y por secuenciación del gen completo de CD40L se encontró la mutación patogénica. Así se identificaron mutaciones en 11 pacientes (7 familias): 8 en el gen de CD40L (5 familias) y 3 en el gen AID (2 familias). Un paciente resultó homocigota en AID y 2 hermanos fueron doble heterocigotas. De las 8 mutaciones descritas ninguna se repitió entre pacientes no relacionados y 5 no estaban reportadas. El estudio molecular permitió que 7 pacientes con diagnóstico probable/posible de HIM tengan diagnóstico definitivo. En 4 pacientes con diagnóstico definitivo de HIM-X por historia familiar el estudio permitió un adecuado asesoramiento de portadoras.

- 370. (1028) ENFERMEDAD TIROIDEA ASOCIADA A ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS EPSTEIN BARR (EBV) PERSISTENTEMENTE ELEVADOS.** DI GIOVANNI DANIELA, GAILLARD Ma. Isabel, GINACA Alejandra, PRECIADO* Ma. Victoria, BEZRODNIK Liliana.

Inmunología, Hospital R. Gutiérrez Virología Hospital R. Gutiérrez, Buenos Aires*

El EBV es un disparador de diferentes enfermedades en individuos genéticamente predispuestos. Describimos 4 pacientes de sexo femenino: 3 de una misma familia con diagnóstico de tiroiditis de Hashimoto (TH) y 1 una con bocio eutiroideo. Paciente (P)1: a los 16 años comenzó con descenso de peso de 6 meses de evolución, síndrome febril prolongado (SFP), astenia, vómitos, diarrea y bocio. Centellograma tiroideo: bocio polinodular. Eutiroidea, con anticuerpos antitiroideos (ATA) elevados; se diagnosticó TH. Como parte del SFP se realiza VCA IgG para EBV con títulos persistentemente elevados y PCR EBV negativa (-), evolución de 4 años. P 2: hermana de P1 a los 14 años amenorrea, bocio eutiroideo, ATA elevados y biopsia de TH con hibridización in situ VEB: (-). Perfil serológico y antigenemia para EBV igual a P1 y P3. P3 madre de P1 y P2 diagnóstico de TH a los 36 años, comenzó con bocio e hipertiroidismo, 9 años de evolución. P4: a los 11 años 2° cuadro de mononucleosis con elevación de IgM IgG VCA, EBNA: (-), PCR EBV: positivo, cursando bocio eutiroideo con ATA(-). Todas presentan IgM total elevadas para la edad. Las 4 P desarrollaron patología tiroidea y muestran serología para EBV compatible con persistencia viral, sin encontrar replicación en 3/4. El EBV dispararía un estado disregulatorio con posibilidad de generar enfermedad autoinmune e inducir mutaciones genéticas predisponiendo a enfermedades linfoproliferativas.

- 371. (1045) ANTICUERPOS ANTI P RIBOSOMAL (A-P RIB) EN HEPATITIS AUTOINMUNE INFANTIL (HAI) CASSE LILIANA, SARDAÑONS Jessica, GINACA Alejandra, CARABAJAL Patricia, FERRO* Amalia, GALOPPO* Cristina, BADIA* Isabel, RIVAS María**

Inmunología y Hepatología, Hospital de Niños "R. Gutiérrez", Buenos Aires

Los a-Prib han sido descriptos como específicos de Lupus Eritematoso Sistémico (LES), asociándose a manifestaciones neuropsiquiátricas, hepatitis y nefritis, con mayor prevalencia en niños. La HA presenta anticuerpos antinucleares (ANA), característica que comparte con el LES. Un pequeño porcentaje de estos ANA están dirigidos contra Rnp, Sm, Ro, La y DNA nativo, especificidades también encontradas en el LES. Objetivo: determinar la prevalencia de a-P ribosomal en HAI y su posible significado clínico. Se estudiaron 51 niños, 38 mujeres y 13 varones, X edad: 9 años con diagnóstico de HA según criterios internacionales. 40 fueron HA tipo I y 11 tipo II. Se evaluaron como controles 20 sueros de niños sanos, 41 de niños con LES y 20 con enfermedades reumáticas sistémicas (ERS) no LES. Métodos: Se investigó a/Prib, a/Sm, a/Rnp, a/Ro, a/La por ELISA y a/DNA nativo y ANA en células Hep2 por IFI. Resultados: 37/51 (72%) HAI presentó ANA en título variable. La frecuencia de a-Prib en HAI fue 33%(17/51), todas tipo I; cinco asociaron otros autoanticuerpos: a/DNA, y/o a/Sm y/o a/Rnp. Ninguno desarrolló criterios diagnósticos de LES en su evolución (X tiempo de seguimiento: 4,5 años). 16/41 (39%) LES presentó a-Prib positivo; en el grupo de niños sanos y otras ERS no LES a-Prib fue negativo. La frecuencia de a-P ribosomal en nuestros pacientes con HA infantil fue comparable con la encontrada en LES, sin presentar asociación clínica con esta enfermedad.

- 372. (1063) SÍNDROME DE HIPER IGE: CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-INMUNOLÓGICAS EN 14 PACIENTES.** VILLA MARIANA, KRASOVEC Silvia, ORNANI Alicia, ZELAZKO Marta, OLEASTRO Matias.

Servicio Inmunología del Hospital Garrahan, Buenos Aires

El Síndrome de Hiper IgE (HIES) es una inmunodeficiencia primaria caracterizada por infecciones piógenas, dismorfismo facial, alteraciones esqueléticas y de la dentición. IgE aumentada es un hallazgo característico junto a eosinofilia. Describimos características clínico-inmunológicas de 14 pacientes pediátricos con HIES. Resultados: de los 14 pacientes (8 masc, 6 fem), sólo 1 presentó antecedentes familiares. Primera manifestación clínica: edad media 7,85 meses (r 0 -48), eczema 6/14, infecciones en piel 5/14, respiratorias 3/14. Edad media al diagnóstico: 4,85 años (r 1 -13). Manifestaciones clínicas generales: eczema 14/14, neumonías 14/14, candidiasis mucocutánea 12/14, dismorfismo facial 12/14, bullas pulmonares 10/14, compromiso de línea media 10/14, hiperlaxitud ligamentaria 8/14 y alteraciones óseas 6/14. De 7 pacientes evaluables, sólo 1 presentó anomalías de la dentición. El valor medio de la IgE sérica al diagnóstico fue de 5226 UI/ml (r 600 -11000), con valores inferiores a 2000 UI/ml en 4 casos. Se registró eosinofilia en 9/12, deficiencia de Ac contra Ag polisacáridos en 6/12 y alteraciones de la inmunidad celular en 6/14. Fallecieron 2 pacientes, ambos de enfermedad pulmonar crónica severa. 1. Baja incidencia de formas familiares. 2. Comienzo temprano de las manifestaciones clínicas. 3. Baja frecuencia de alteraciones de la dentición. 4. Constante compromiso pulmonar de presentación temprana. 5. Valores de IgE menores a 2000 UI/ml no deben hacer descartar este cuadro

- 373. (1077) SLAM: UN NUEVO MARCADOR DE ABORTOS RECURRENTES ESPONTANEOS? RAMHORST ROSANNA, GARCIA Verónica, CORIGLIANO Adriana, FAINBOIM Leonardo.**

Laboratorio de Inmunogenética, Htal. de Clínicas, Buenos Aires

La molécula linfocitaria activadora de señales (SLAM) es un marcador de activación celular que aumenta la proliferación y la pro-

ducción de INF-g. Dado que las mujeres con abortos recurrentes espontáneos (ARE) presentan altos niveles de INF-g en la decidua materna post implantación fetal, investigamos la expresión de SLAM y de citoquinas en biopsias de endometrio de mujeres con ARE y mujeres fértiles, como marcadores de ARE. La expresión de SLAM por Western Blot resultó aumentada en 7 de 8 pacientes con ARE, a diferencia de las mujeres fértiles, donde SLAM se expresó en 1 de 8 mujeres. Asimismo, la determinación de la expresión de SLAM en linfocitos de sangre periférica (SP) por citometría de flujo, mostró niveles significativamente mayores de la proteína en mujeres con ARE respecto a fértiles ($p < 0.05$ t Test). No se encontraron diferencias significativas en la expresión de las citoquinas INF-g, IL-4, IL-5 e IL-10 en endometrio de mujeres con ARE y fértiles por estudios de RT-PCR. Sólo cuando los linfocitos endometriales o de SP se estimularon con PMA+Ionomomicina (estimulación policlonal), se detectaron células productoras de IFN-g por citometría de flujo. Concluimos la expresión de citoquinas como marcador de ARE requiere previa estimulación policlonal, pero el aumento de la expresión de SLAM en endometrio y en linfocitos de SP de mujeres con ARE respecto a mujeres fértiles indica que esta proteína podría resultar un eficiente marcador de ARE.

- 374. (1082) TRATAMIENTO CON HEPARINA EN UN MODELO ABORTADOR MURINO: SU EFECTO SOBRE LA REGULACIÓN DE IL-6 FETOPLENTARIA.** BEROD LUCIANA, GUTIERREZ Gabriela, SARTO Adriana, GENTILE Teresa, PASQUALINI Sergio, MARGNI Ricardo.

IDEHU- Cátedra de Inmunología- Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA. Fundación Origen y Vida

Procesos tromboticos uteroplacentarios mediados por citoquinas son responsables de abortos. La cruda murina CBAXDBA presenta alto índice de resorción fetal y deficiente producción local de citoquinas Th2, que llevaría a fallas en la preñez vía protrombinasa fgl2. Estudios previos indican que tanto la heparina como IL-6 reducen la tasa de aborto en ratones CBAXDBA. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la heparina sobre los niveles de IL-6 fetoplacentarios previos a la culminación de eventos que llevan a la resorción. Ratones CBAXDBA se trataron con 0.7mg/kg/24h de Enoxaparina sódica sc. desde el día 6.5 hasta 9.5 de la preñez. Como control se utilizó CBAXDBA placebo, y animales de la cruda no abortadora CBAXBalb-c. Se determinó por ELISA IL-6 en suero a día 0.5, 6.5, 10.5 y en sobrenadantes obtenidos de cultivo de 48h de unidades fetoplacentarias (SCUFP) de día 10.5. Los SCUFP de CBAXDBA presentaron niveles significativamente menores de IL-6 en comparación con CBAXBalb-c (0.2ng/g vs 0.9 ng/g, $p < 0.001$). A nivel sérico no se observaron diferencias. El tratamiento con enoxaparina produjo un incremento significativo de los niveles de IL-6 (200 por ciento, $p < 0.05$) en los SCUFP de CBAXDBA. Estos resultados indicarían que las unidades fetoplacentarias de CBAXDBA son deficientes en la producción de IL-6, y que la inoculación de heparina podría tener un efecto protector del embarazo a través de la regulación de citoquinas fetoplacentarias, entre ellas IL-6.

- 375. (1091) INMUNÓGENOS QUIMÉRICOS COMO POTENCIALES VACUNAS SUBCELULARES EN BRUCELOSIS.** LAPLAGNE DIEGO, CASSATARO Juliana, ESTEIN Silvia, BRUNO Laura, GIAMBARTOLOMEI Guillermo, FOSSATI Carlos, GOLDBAUM Fernando, BOWDEN Raúl.

Instituto Leloir, IDEHU, Fac. Fcia. y Bioq, UBA; Lab. Inmunoq y Biotecnol., Fac. Cs. Veterinarias, UNICEN, Tandil.

La proteína de membrana externa Omp31 de *Brucella* spp. es un antígeno inmunodominante capaz de inducir protección. En las cepas rugosas, Omp31 es accesible a los anticuerpos (Ac). Posee un epítopo B protector en un bucle hidrofílico expuesto, cuya inmunogenicidad podría aumentarse presentándolo en multicopia sobre un soporte apropiado. La lumazina sintética (BLS) de *Brucella* spp., es un pentámero estable y muy inmunogénico que contiene sitios expuestos capaces de aceptar péptidos foráneos, permitiendo la creación de quimeras. En este caso, se obtuvo una quimera

compuesta por BLS, más un péptido de 27 aa. de Omp31 (repetido 5 veces). Además se construyó una quimera genética análoga para su estudio como vacuna a ADN. La inmunogenicidad fue estudiada en ambos casos. En el caso de la proteína, los ratones BALB/c, recibieron 2 dosis de 30 ug de Omp31 o BLS-Omp31 en Adyuvante de Freund incompleto. Para la quimera genética, se inyectaron 4 dosis de 100 ug de plásmido. Los Ac se estudiaron por ELISA indirecto usando rOmp31 como antígeno. Tanto los ratones inmunizados con Omp31 como con BLS-Omp31 (proteína) desarrollaron Ac anti-Omp31, pero con niveles significativamente mayores en la inmunización con Omp31. En la inmunización con ADN, la quimera BLS-Omp31 indujo mayores niveles de Ac anti-Omp31. Se demuestra que un solo péptido de Omp31, en un contexto apropiado, induce Ac en niveles importantes y que estos pueden modularse eligiendo diferentes estrategias de intervención inmunitaria.

- 376. (1099) PRESENTACION DE 294 PACIENTES CON INMUNODEFICIENCIA PRIMARIA DI GIOVANNI DANIELA, BEZRODNIK Liliana, GAILLARD Ma Isabel, GOMEZ RACCIO Andrea, PAZ Ruben, RIVAS E. María.**

Inmunología, Hospital de Niños R. Gutiérrez, Buenos Aires

Entre 1990-2002 se registraron 294 pacientes con diagnóstico de inmunodeficiencia primaria (IDP). Se agruparon según la Clasificación de IDP del Grupo Latinoamericano de Inmunodeficiencia. Resultados: 233/294 (79,2%) deficiencias de anticuerpos: deficiencia selectiva de IgA: 144/294 (49%); Agamaglobulinemia ligada al X: 20; Inmunodeficiencia común variable (IDCV): 25; Hiper IgM: 5; Agamaglobulinemia : 2; Déficit de respuesta a polisacáridos con Ig normales: 7; otros: 3. 30/294 (10,2%): inmunodeficiencias celular y humoral asociadas con otro defecto mayor: Ataxia telangiectasia: 11; Wiskott Aldrich: 10; Candidiasis mucocutánea crónica: 5; Di George: 4. 6/294 (2,1%) inmunodeficiencia celular; 5/294 (1,7%) inmunodeficiencia asociadas con defectos de fagocitosis; 10/294 (3,4%) defectos del sistema fagocítico; 5/294 (1,7%) defecto del complemento; 5/294 (1,7%) enfermedades asociadas a IDP. 8/294 presentaron complicaciones escasamente informadas: 5/8 agamaglobulinemia presentaron: 2 artritis poliarticular sin respuesta al tratamiento convencional, 1leucoencefalopatía multifocal progresiva por virus JC, 1 amiloidosis tiroidea y 1 hepatitis crónica no B no C. 1/8 paciente con Síndrome de Wiskott Aldrich desarrolló un tumor indiferenciado de cerebro; 1/8 con Síndrome de Hiper IgE, un linfoma no Hodgkin; 1/8 con IDCV, polio post vaccinal. Como parte de su tratamiento el 27% requirió gamaglobulina sustitutiva y el 2.4% trasplante de médula ósea.

- 377. (1112) INGENIERIA DE PROTEINAS DE UNA ENZIMA POLIMERICA BACTERIANA COMO HERRAMIENTA PARA EL DESARROLLO DE INMUNOGENOS QUIMERICOS.** LAPLAGNE DIEGO, ZYLBERMAN Vanesa, VELIKOVSKY Alejandro, CASSATARO Juliana, FOSSATI Alberto, GOLDBAUM Fernando.

Fundación Instituto Leloir. IDEHU-UBA-CONICET

Los antígenos que presentan un alto grado de repetitividad y organización son capaces de inducir respuestas fuertes en los linfocitos B. La enzima lumazina sintética (LS) de *Brucella* spp. es altamente inmunogénica, debido presumiblemente a su rearreglo pentamérico y a su notable estabilidad, evidenciada por estudios de desnaturalización química y térmica. La estructura cristalográfica, y estudios de mutagénesis en una proteína homóloga, sugirieron que es posible insertar péptidos pertenecientes a otras proteínas en el extremo amino terminal de la LS sin que en dichas quimeras se perturbe el plegamiento y estabilidad del pentámero. Nosotros hemos diseñado un vector con un sistema de "cassette" para producir estas proteínas quiméricas basándonos en la estructura tridimensional de la LS. Utilizando este sistema hemos producido y caracterizado ocho quimeras conteniendo péptidos de diferente secuencia y largo. En el presente trabajo mostramos que tanto el plegamiento como la estabilidad de estas quimeras son similares a los de la proteína nativa, indicando que este sistema puede ser un método eficiente para el desarrollo de respuesta inmune contra péptidos. Además, mediante desplegamiento, mezcla y posterior

replegamiento de distintas proteínas, mostramos que se puede producir quimeras mixtas, capaces de presentar en su estructura pentamérica péptidos diferentes de composición predefinida. Este trabajo muestra que la ingeniería de proteínas de la lumizina sintética de *Brucella* spp. es una estrategia útil para el desarrollo de inmunógenos acelulares.

- 378. (1137) COMPORTAMIENTO DEL BACILO DE CALMETTE-GUÉRIN EN PACIENTES CON INMUNODEFICIENCIA COMBINADA SEVERA.** ORNANI ALICIA, KRASOVEC Silvia, ZELAZKO Marta, OLEASTRO Matías.

Servicio de Inmunología - Hospital Nacional de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Buenos Aires

Las IDCS se caracterizan por la ausencia de función inmune adaptativa lo que genera gran susceptibilidad a infecciones por múltiples microorganismos. Describimos el impacto de la vacunación BCG en 23 pacientes con IDCS. Resultados: al diagnóstico inmunológico, 13 presentaron manifestaciones en la región de inoculación: 9 lesión habitual y 4 úlcera con adenitis (enfermedad regional); 10 pacientes no presentaron lesión. En 6 pacientes se confirmó diseminación por cultivos (hemocultivos en 4). De estos 6, 3 tuvieron manifestaciones extraregionales (cutáneas). Dieciséis pacientes recibieron alguna droga inmunosupresora en relación al TMO o GVH y de ellos 13 tratamiento antiBCG. Sólo uno con esta combinación terapéutica presentó progresión de la infección. De los 12 pacientes con reconstitución T, 2 presentaron nuevas manifestaciones relacionadas con el BCG en ese momento, uno lesión habitual y el otro enfermedad regional autolimitada. De la mortalidad global (12 pacientes), sólo en 2 ésta estuvo relacionada con la infección por el BCG. 1- Presentamos la casuística más numerosa hasta la actualidad de pacientes con IDCS vacunados con BCG. 2- No encontramos relación entre las manifestaciones en la región vaccinal y la diseminación. 3- Debe realizarse la búsqueda sistemática del BCG por hemocultivos y en biopsias de lesiones tisulares. 4- La utilización de drogas inmunosupresoras bajo tratamiento específico antiBCG no condicionaría riesgo de progresión de la infección.

- 379. (1174) EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE INDUCIDA EN BOVINOS POR VACUNAS INACTIVADAS FORMULADAS CON BHV-1 O BHV-5 Y LA PROTECCIÓN CONFERIDA FRENTE A LA INFECCIÓN CON BHV-5. DEL MÉDICO.** ZAJAC MARÍA PAULA, ROMERA Alejandra¹, PUNTEL Mariana^{1,2}, ZAMORANO Patricia^{1,2}, ALEGRE Mariana L, MALIANDI P³, MATTION Nora⁴, SADIR Ana María^{1,2}.

Instituto Virología, CICVyA, INTA Castelar ¹Instituto de Virología, CICVyA, INTA Castelar, ²CONICET, ³San Jorge Bagó, ⁴Biogénesis

El herpes virus bovino tipo 5 (BHV-5) es el agente causal de la meningoencefalitis. El objetivo de este trabajo es evaluar la inmunidad inducida en bovinos por las vacunas inactivadas BHV-1 y BHV-5 y la protección conferida frente al desafío con BHV-5. Se inmunizaron dos grupos de bovinos, uno con la vacuna inactivada BHV-1 y otro con BHV-5, por vía subcutánea, revacunándose a los 21 días. Un tercer grupo fue utilizado como control. Los tres grupos fueron desafiados con 10((7.5))DICT[[50]] de BHV-5 a los 71 días post vacunación (dpv). La respuesta inmune humoral y celular fueron evaluadas por ELISA y el test de linfoproliferación (TLP) respectivamente. Luego del desafío, se registró la sintomatología y excreción viral. Ambos grupos de vacunados presentaron una respuesta inmune humoral similar tanto en suero (con títulos máximos de 4 log10) como en secreciones nasales (presencia de IgG[[1]] desde el día 21pv). En cuanto a la respuesta celular, el 25% y el 20% de los animales inmunizados con la vacuna inactivada BHV-1 y BHV-5 respectivamente presentaron índice de TLP positivo. Los bovinos vacunados resultaron protegidos frente al desafío viral, solo 4 de 9 animales presentaron excreción y los títulos obtenidos fueron menores a los observados en los animales control. Además, solo 3 animales presentaron síntomas nerviosos leves. Ambas formulaciones inducen una respuesta inmune similar y otorgan protección frente al desafío.

- 380. (1176) DESARROLLO DE UNA VACUNA INMUNOMODULADA DE RÁPIDA ACCIÓN CONTRA EL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA (VFA).** QUATTROCCHI VALERIA, FONDEVILA Norberto, PAPPALARDO Sebastián, SADIR Ana, ZAMORANO Patricia.

INTA INTA-Instituto de Virología, Universidad del Salvador, Buenos Aires

El objetivo de este trabajo es investigar la eficacia de aceites Montanide ISA e inmunomoduladores acuosos IMS, con el fin de lograr una vacuna que induzca rápidamente Acs protectores contra VFA, también nos propusimos desarrollar un ELISA para detectar los diferentes isotipos de Igs inducidos. Se inmunizaron ratones Balb-c (5 por grupo), por vía ip con 0.2 ml de cada vacuna. Las vacunas formuladas se hicieron con distintas dosis de virus O1Camposy distintos adyuvantes: ISA 70 (aceite mineral)(W/O), 206 (W/O/W), 773 (W/O) - y acuosos- IMS D 12801, D 12802 y 1313 N PR-, también con el VFA inactivo sin adyuvante, se determinó el nivel de anticuerpos específicos a diferentes días post vacunación. Datos preliminares indican que la inducción precoz de mayores títulos de Acs contra VFA se logran cuando se inmuniza con vacunas formuladas con el IMS 1313 (a los 6 dpv los títulos de Acs fueron significativamente superiores a los inducidos por las vacunas ISA 70, 773 y VFA inactivo sin adyuvante. A los 6 meses pv, los niveles de Acs fueron superiores en el grupo que recibió vacuna con ISA 773 con una EPP del 100%. A los 14 dpv los niveles de IgG1 fueron muy superiores en el grupo IMS 1313. Estos datos preliminares indican que el inmunomodulador IMS 1313 sería adecuado para inducir una rápida respuesta humoral y el aceite 773 el mejor para una vacuna que induzca larga inmunidad.

NEFROLOGÍA I

- 381. (423) ROL DEL ÓXIDO NÍTRICO EN EL EFECTO DE LA INHIBICIÓN CRÓNICA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA SOBRE EL PROCESO DE ACIDIFICACIÓN TUBULAR PROXIMAL.** DÍAZ SYLVESTER PAULA, FIORI Mariana, MÜLLER Angélica, AMORENA Carlos.

Inst. de Investigaciones Cardiológicas ECyT, Universidad Nacional de General San Martín.

El intercambiador Na⁺/H⁺ (NHE3) es el principal transportador involucrado en el proceso de acidificación tubular proximal (PTA). La angiotensina II tiene un efecto bifásico sobre la actividad del NHE3: concentraciones bajas estimulan y altas inhiben. Previamente, mostramos que agonistas de la liberación de NO, como bradiquina, shear stress y ATP, producen un aumento de la PTA. Objetivo: Estudiar el efecto del tratamiento crónico con antagonistas del sistema renina-angiotensina sobre la PTA y determinar el rol del NO en este efecto. Métodos: Tratamos ratas Wistar con 10mg/kg.día de Enalapril (E) o Losartan (L) administrados en la bebida durante tres meses desde el destete. Evaluamos la cinética de PTA con experimentos de micropuntura, calculando el flujo de H⁺(+) (JH⁺). En homogenatos de corteza y médula, medimos el contenido de sintetasa de NO inducible (iNOS) por Western y la actividad de síntesis de NO dosando la conversión de [((14))C]L-Arginina a [((14))C]L-Citrulina. Resultados: JH⁺: C=1,95±0,12; E=3,31±0,19*; L=2,65±0,21* [14C]L-Citrulina formada: Cortezas: C=14,3±1,3; E=20,9±1,6*; L=20,2±1,8* Médulas: C=11,6±1,1; E=12,6±1,1; L=12,4±1,1. Se detectó iNOS en médulas y cortezas, sin diferencias entre tratamientos. El efecto estimulador del tratamiento podría estar mediado por NO. Los contenidos de iNOS no se correlacionan con las diferencias en la actividad NOS, que podrían deberse a diferencias en los contenidos de otras isoformas o a modulaciones post-traduccionales.

- 382. (427) RELACION ENTRE PRODUCTO DE ACTIVIDAD IONICA URINARIA DEL OXALATO DE CALCIO Y DAÑO TUBULOINTERSTICIAL RENAL.** ANGEROSA MARGARITA, STELLA Inés, FERDER León, INSERRA Felipe, TOBLI Jorge.

Laboratorio de Medicina Experimental, Hospital Alemán, ININCA, Buenos Aires

Objetivo: evaluar la relación entre el producto de la actividad iónica (PAI) de oxalato de calcio (OxCa) urinaria, indicador de sobresaturación (SS) y el daño tubulointersticial (DTI), en ratas hiperoxalúricas. Durante un mes G1 con agua y G2 con Etilenglicol (ETG) 1% en el agua. El PAI de OxCa se cuantificó con fórmula de Tisselius. El DTI se evaluó con MO e IHQ. G2 presentó valores mayores ($p < .01$) de: a) oxaluria ($\mu\text{g/g}$ rata/día) 13.2 ± 2.8 vs. 1.5 ± 0.1 ; b) PAI de OxCa, 1.1 ± 0.3 vs. 0.1 ± 0.1 ; c) score de cristaluria, 2.7 ± 0.7 vs. 0.1 ± 0.3 ; d) proteinuria (mg/día), 27.8 ± 7.7 vs. 1.1 ± 0.4 ; y menor ($p < .01$) cl. creat (ml/min) 0.9 ± 0.1 vs. 1.4 ± 0.1 . La patología mostró en G2 mayor DTI ($p < .01$) caracterizado por score de: a) atrofia tubular; b) inf. inflamatorio (ma/mo); c) depósitos de cristales; d) fibrosis intersticial; e) a-actina de músculo liso intersticial; f) colágeno tipo III; g) TGF β 1 tubulointersticial. Se observó alta correlación entre el PAI de OxCa y la mayor parte de los parámetros de DTI en el G2, especialmente con el score de fibrosis intersticial. La regresión múltiple mostró que el inf. inflamatorio ($t = 32$ $p < .02$) y el PAI de OxCa ($t = 20.6$ $p < .04$) fueron las variables más significativas en relación con fibrosis intersticial. En conclusión, los animales hiperoxalúricos presentaron mayor PAI de OxCa asociada a mayor DTI. Estos datos sugieren que el control de la SS urinaria de OxCa en los estados de hiperoxaluria adquiere importancia más allá de la nefrolitiasis.

- 383. (493) PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO) EN LOS EFECTOS HIPOTENSOR Y RENAL DEL PÉPTIDO NATRIURÉTICO ATRIAL (ANP).** COSTA MARÍA DE LOS ANGELES, ELEGARAY Rosana, LORIA Analía, MARIANESCHI Rosario, CUTULI Guillermo, BALASZCZUK Ana, ARRANZ Cristina.

Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA Cátedra de Fisiología, Universidad de Buenos Aires, IQUIMEFA-CONICET.

El NO aumenta diuresis y natriuresis y disminuye tono vascular. Hemos demostrado que la activación del sistema del NO está involucrada en el efecto hipotensor del ANP. Objetivo: estudiar el efecto del ANP sobre la actividad de la NO-sintasa (NOS: pmol/mg tej) vascular y renal. Ratas grupo I: infusión salina (30min, 0.05ml/min) y grupo II: bolus ANP (5 $\mu\text{g/kg}$) + infusión con ANP (30min, 0.2 $\mu\text{g/kg}$.min). Se midió excreción de nitritos y nitratos en orina (NOx; nmol/min.100g) por método de Griess. En aorta y riñón se determinó actividad de NOS con L-[14C]-arginina: órganos grupol: actividad de NOS basal (C) y con agregado in vitro de ANP 1 μM (C+ANP); grupoll: actividad basal (ANP). El ANP aumentó la NOx (I=0.08 \pm 0.03; II=0.40 \pm 0.11*). * $p < 0.001$

ACTIVIDAD NOS	C (n=6)	C+ANP (n=6)	ANP (n=7)
Médula	418.06 \pm 6.13	531.98 \pm 13.54*	521.01 \pm 9.01*
Corteza	318.39 \pm 9.78	375.77 \pm 12.85*	412.11 \pm 5.47*
Arteria Aorta	187.17 \pm 7.32	261.19 \pm 10.97*	281.94 \pm 5.85*

La elevada excreción de NOx y la aumentada actividad de la NOS en riñón y arteria indican que el ANP induce un aumento en la producción sistémica y renal de NO, efecto que es independiente de los cambios hemodinámicos inducidos por el péptido. La activación del sistema del NO sería uno de los mecanismos involucrados en los efectos diurético, natriurético e hipotensor del ANP.

- 384. (512) EL FACTOR NATRIURÉTICO ATRIAL REGULA EL METABOLISMO DE LA DOPAMINA RENAL A TRAVÉS DEL RECEPTOR NPR-A Y EL GMPc COMO MENSAJERO.** CORREA ALICIA, CHOI Marcelo, FERNANDEZ Belisario.

Cátedra de Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA). CONICET.

Hemos observado que el Factor Natriurético Atrial (100 nM ANF) aumenta in vitro la captación de ((3))H-Dopamina (DA) en cortes de riñón de rata. La captación se caracterizó como tipo extraneuronal, temperatura y sodio dependiente. Se individualizó el receptor y mensajero. El receptor es el tipo A (PNR-A) pues el inhibidor específico anantín 100 nM (A) carece de efectos per se y bloquea el efecto del ANF (C: 5.32 \pm 0.25; ANF: 7.18 \pm 0.18*; A: 4.96 \pm 0.16; ANF+A: 4.78 \pm 0.27**). Se descarta al receptor tipo C (PNR-C), pues el análogo truncado 4-23 ANF-amida careció de efecto y no modificó la respuesta al ANF (C: 5.46 \pm 0.2; ANF: 7.2 \pm 0.12*; ANF 4-23: 5.9 \pm 0.24; ANF+ANF 4-23: 7.45 \pm 0.19*). El mensajero es el GMPc particulado pues el análogo 8Br-GMPc reprodujo los efectos del ANF (C: 5.00 \pm 0.11; ANF: 5.63 \pm 0.26*; 25 μM 8Br-GMPc: 5.30 \pm 0.19*), que se inhibieron con 10 μM azul de metileno (AM) (C: 5.95 \pm 0.38; ANF :10.19 \pm 0.63*; AM:7.39 \pm 0.64**; ANF+AM: 7.14 \pm 0.58**), pero no con ODQ, que no produjo efectos per se ni alteró la respuesta al ANF (C: 5.95 \pm 0.38; ANF 8.06 \pm 0.38*; 10 μM ODQ: 5.12 \pm 0.6; ANF+ ODQ: 7.28 \pm 0.26*). Por ello también se descarta la participación del ON y el GMP soluble. Los resultados se expresan en d.p.m./g. 10((5)) \pm ES. * $P < 0.05$ vs C; ** $P < 0.05$ vs ANF; n=4-10. Los resultados sugieren que parte de los efectos natriuréticos del ANF se deben al aumento de la disponibilidad de DA renal, el reclutamiento y sobre estimulación del receptor D1 e inhibición de la Na+K+ ATPasa renal.

- 385. (594) ROL DEL MECANISMO DE RECAPTACIÓN NEURONAL EN LA RESPUESTA CONTRÁCTIL A NORADRENALINA (NA) EN RIÑONES DIABÉTICOS GARCÍA VERÓNICA, MONASTEROLO Liliana, ELÍAS Mónica.**

Area Farmacología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario

La vasculatura renal de ratas tratadas con aloxano (150 mg/kg, s.c., 7 días antes del estudio) presenta mayor sensibilidad a NA. Al estudiar la respuesta contráctil a fenilefrina se halló que la misma no se modifica, hecho que sugiere ausencia de alteraciones postsinápticas. Otra posibilidad es que en este estadio de diabetes ocurra una disminución de la recaptación neuronal del neurotransmisor. Por tal motivo, se evaluó la respuesta contráctil a NA en presencia de un inhibidor de la recaptación de la misma, en riñones controles (C) y diabéticos (D). En el modelo de riñón aislado y perfundido se agregaron dosis crecientes de NA (0.25-50 nmol) y se registraron variaciones de presión de perfusión manteniendo el flujo constante, en presencia de imipramina (IMI) 0.02 μM . En este sistema, esta concentración de IMI inhibió la recaptación y no puso de manifiesto sus propiedades antagonistas alfa-adrenérgicas. IMI provocó un aumento en la sensibilidad a NA tanto en C como en D, sin cambios en las respuestas máximas. (DE[[50]] nmol, C: 7.8 \pm 0.6; C+IMI: 4.3 \pm 0.6 #; D: 3.4 \pm 0.2 #; D+IMI: 2.3 \pm 0.1*; n=4 en C+IMI y n=5 en cada uno de los demás grupos; # $p < 0.05$ vs C; * $p < 0.05$ vs D). Estos datos indican que en este estadio de diabetes la mayor sensibilidad a NA no se debería a una inhibición total de la recaptación presináptica de la misma.

- 386. (629) LOSARTAN ATENUA FIBROSIS INTERSTICIAL RENAL Y ESTRES OXIDATIVO MITOCONDRIAL EN EL RIÑÓN DE RATA ESPONTANEAMENTE HIPERTENSA.** INSERRA FELIPE, STELLA Inés, DE CAVANAGH Elena, FERDER León, TOBLI Jorge.

ININCA, Hospital Alemán. Buenos Aires

El estrés oxidativo (EO) está involucrado en la patogenia de diferentes enfermedades renales e hipertensión arterial. Ang II parecería participar en el desarrollo del EO mitocondrial (EOM). Objetivo: evaluar efecto de losartan (L) sobre EOM y fibrosis tubulointersticial (TI) en riñón de rata espontáneamente hipertensa (SHR). G1 SHR (n=10); G2 SHR+L (n=10); G3 WKY (n=10). G2 con L40mg/kg/día por 4 meses. Estudio renal con MO, IHQ y parámetros de EO. Se evaluó (0-4): 1) Fibrosis TI, 2) a-SMA TI. Potencial de membrana mitocondrial (PMM) y producción de H2O2 mitocondrial (MH2O2) en homogenato renal. Resultados: Presión sistólica (G1: 191.4 \pm 2.4; G2: 135.5 \pm 1.9*; G3: 120.6 \pm 0.5). Fibrosis TI (G1: 2.5 \pm 0.1; G2: 0.4 \pm 0.1*; G3: 0.2 \pm 0.1). a-SMA TI (G1: 1.6 \pm 0.1;

G2: 0.3 ± 0.08 *; G3: 0.1 ± 0.06). PMM (mV) (G1: 161.5 ± 4.2 ; G2: $124.6 \pm 2.8^{**}$; G3: 115.4 ± 8.2). MH2O2 (nmol/min/mg prot.) (G1: 25.3 ± 0.7 ; G2: $10.3 \pm 1.2^{**}$; G3: 14.2 ± 1.9) * $p < 0.01$ vs. G1 y G3; ** $p < 0.01$ vs. G1. En SHR la fibrosis TI presentó una correlación con PMM ($r = -0.79$ $p < 0.01$) y con MH2O2 ($r = 0.78$ $p < 0.05$). SHR+L no presentaron estas relaciones. a-SMA fue el factor más importante en predecir la fibrosis TI en SHR. L mostró efectos favorables respecto a fibrosis TI y contra el EOM en SHR.

387. (694) EFECTOS DE LA ISQUEMIA/REPERFUSIÓN (I/R) SOBRE LA ABUNDANCIA DE LA SUBUNIDAD β Y LA ACTIVIDAD LATENTE DE LA NA+, K+-ATPASA (NKA) EN CORTEZA RENAL. COUX GABRIELA, TRUMPER Laura, ELÍAS Mónica.

Farmacología-Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas-Universidad Nacional de Rosario CONICET.CIUNR.

Hemos informado que la isquemia renal provoca una disminución en la actividad NKA y un aumento de la abundancia de su subunidad alfa (α) en homogeneizados corticales de ratas Wistar. La reperusión del órgano normaliza sólo la actividad. Nuestro objetivo fue estudiar si cambios en la abundancia de la subunidad β , esencial para la actividad NKA ($\alpha\beta\gamma$) o cambios en la latencia (actividad que se revela mediante la permeabilización con detergentes) podían explicar el efecto de I/R sobre la NKA. Estudiamos la abundancia de la subunidad β por Western-blot en homogeneizados corticales obtenidos a partir de controles (C), luego de 40 min de isquemia (I40) y luego de 40 min de isquemia y 60 de reperusión (IR40). La subunidad β no mostró cambios significativos. Aislamos membranas plasmáticas corticales a partir de C, I40 e IR40, y estudiamos la dependencia de la actividad NKA con SDS. Sin SDS la actividad NKA fue: C= 26.2 ± 2.5 , I40= $13.9 \pm 3.1^*$, IR40= 22.9 ± 2.1 $\mu\text{mol/h.mg prot.}$ * $p < 0.05$ vs. C. A [SDS]= 0.9 mg/ml la actividad fue máxima y no presentó diferencia entre los grupos (C= 90.5 ± 3.5 , I40= 91.4 ± 15.1 , IR40= 78.6 ± 8.2 $\mu\text{mol/h.mg prot.}$). Esta concentración de SDS abolió las diferencias previamente informadas de la actividad NKA en homogeneizados. Estos datos sugieren que la menor actividad NKA cortical observada durante isquemia se debe a cambios en la latencia de la enzima. Además, en I/R se perdería la normal relación entre subunidades α/β por lo cual el aumento de α no implicaría mayor actividad.

388. (757) EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LA FUNCIÓN RENAL Y DE LA ABUNDANCIA DE NA+, K+-ATPASA DESPUÉS DE 40 MINUTOS DE ISQUEMIA SEGUIDOS HASTA 48 HORAS DE REPER-FUSIÓN. MOLINAS SARA, TRUMPER Laura, ELÍAS Mónica.

Farmacología- Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas-UNR CONICET, Consejo de Investigaciones de la UNR

Se evaluaron los resultados de la reperusión de 24 y 48 horas sobre la función renal y los contenidos de Na+,K+-ATPasa en corteza de riñón después del proceso de isquemia unilateral de 40 minutos, en ratas Wistar machos adultos controles (C, n=6) e isquémicas (I+R, 24 horas, n=4 y 48 horas, n=8). Las funciones renales glomerulares y tubulares se midieron mediante técnicas de clearance en jaula metabólica. Para la cuantificación de la ATPasa se utilizó homogenado de corteza renal, de ambos riñones: isquémico y contralateral, al que se le midió el contenido de proteínas, y se sometió a electroforesis sobre gel de poliacrilamida (8%) y posterior transferencia a membranas de celulosa. Los geles fueron cuantificados con el programa Adobe PhotoShop. Los resultados indicaron que después de 24 horas de reperusión la función renal se vio muy alterada y no llegó a ser igual al control a las 48 horas ([Urea g/l]: C= 0.28 ± 0.02 ; 24h= $0.67 \pm 0.06^*$; 48h= $0.46 \pm 0.07^{**}$ $p < 0.05$. La excreción de proteínas en orina g/min fue: C= 1.22 ± 0.14 ; 24h= $3.60 \pm 0.74^*$; 48h= $1.53 \pm 0.16^{**}$, [* diferente de C; ** diferente de 48h]. La abundancia de la ATPasa en C(n=6) fueron menores que los observados a los 24(n=5) y 48 horas (n=6), manteniéndose la respuesta descripta después de 40 minutos de isquemia. Por otro lado los riñones contralaterales no se diferenciaron estadísticamente del control. Los resultados indican que la ATPasa acompaña la disfunción renal condicionada por el episodio de isquemia-reperusión.

389. (853) INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO AGTM235T DEL ANGIOTENSINÓGENO (AGT) EN LA EVOLUCIÓN DE LA POLIQUISTOSIS RENAL AUTOSÓMICA DOMINANTE (PRAD). AZURMENDI PABLO, MUCHNIK Carolina, FRAGA Adriana, GALAN Felicitas, ARRIZURIETA Elvira, O FLAHERTY Martin, MARTIN Rodolfo.

Instituto de Investigaciones Médicas "Dr. A. Lanari", Hospital Universitario Austral, Universidad Austral, Buenos Aires

La progresión del daño renal en PRAD es variable, aún con la misma mutación. Por ello, el estudio de genes modificadores del fenotipo es de interés pronóstico. Polimorfismos de enzima convertora de Angiotensina y AGT han sido asociados a mayor actividad del sistema renina-angiotensina (SRA). En este trabajo evaluamos el polimorfismo AGTM235T del AGT y su relación con la edad de comienzo (EdC) de insuficiencia renal crónica y con la velocidad de caída (VdP) del filtrado glomerular. Se estudiaron 34 pacientes con creatininas plasmáticas (Crpl) > 2 mg/dl calculándose la pendiente de caída de la inversa de la Crpl ($1/\text{Crpl}$) vs. edad, a lo largo de 6.6 ± 1 años. Consideramos Crpl de 2 y 6 mg/dl como EdC e insuficiencia renal crónica terminal (IRCT), respectivamente. La distribución alélica y genotípica del AGTM235T en 31 controles y 34 PRAD no muestran diferencias y están en equilibrio de Hardy-Weinberg. La VdP en el genotipo TT es mas rápida, cuando se los compara con MM y MT (-0.12 ± 0.02 vs -0.07 ± 0.01 , respectivamente, $P < 0.015$). La tensión arterial media promedio entre los genotipos MM, MT y TT fue de 107.7 ± 1.5 , 110.2 ± 1.4 y 114.4 ± 1.0 mmHg, respectivamente, siendo diferentes MM de TT ($P < 0.03$). En un modelo de regresión múltiple, AGTM235T se relacionó con VdP independientemente de EdC y edad de IRCT. Se concluye que el genotipo TT indica un peor pronóstico, independientemente de la EdC, ya sea como marcador de hipertensión o asociado a otros efectos de la activación del SRA.

390. (930) CLORURO MERCURICO EN LA INTERACCION FIBRONEC-TINA (FN)-MIELOPEROXIDASA (MPO). SABALL ESTER, MANGIAMELI Florencia, SALVARREY Marcela.

Area Inmunología. Facultad Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR.

En procesos inflamatorios la MPO puede concentrarse por transcitosis en la matriz extracelular (MEC) y catalizar la nitración de Fn. Objetivo: estudiar la localización de Fn y MPO en el modelo de insuficiencia renal inducida por HgCl₂ y el efecto del HgCl₂ sobre polimorfonucleares (PMN) y sobre la unión Fn-MPO. Métodos: Se determinó MPO por tinción citoquímica con diaminobencidina-H₂O₂ en 1) cortes de riñón de ratas control y tratadas con HgCl₂ (5 mg/kg peso, s.c.) y 2) PMN aislados de sangre periférica humana por gradiente de Ficoll-Hypaque, incubados con HgCl₂ (5-20 μM) o solución salina (16 hs, 37°C). Fn se detectó por inmunohistoquímica con a-Fn policlonal. La afinidad de la unión Fn-MPO se midió sensibilizando policubetas con $1 \mu\text{g/pocillo}$ de Fn a las que se aplicaron cantidades variables de un extracto de PMN obtenido por sonicación ($\pm \text{HgCl}_2$). Se determinó MPO unida por lectura a 450 nm del producto de reacción con tetrametilbencidina-H₂O₂. En todos los casos se realizaron 3 experimentos por duplicado. Resultados: 1) fuerte reacción y colocalización de Fn y MPO en túbulos y glomérulos del tejido tratado, 2) degranulación de los PMN tratados, 3) MPO se une a Fn en un único sitio con afinidad moderada, K_d 0.36 ± 0.05 μM , que no es modificada por el HgCl₂. Conclusión: los resultados sugieren que en este modelo animal el HgCl₂ podría inducir la degranulación de PMN posibilitando la concentración de MPO en la MEC del riñón y nitración de Fn, aumentando así el daño inflamatorio.

391. (946) USO DEL MODELO DE CRECIMIENTO RENAL COMPENSATORIO PARA EL ESTUDIO DE LOS MECANISMOS PATOGENÉTICOS DE LA TOXINA SHIGA (STX). CAMERANO GABRIELA, BUSTUOABAD Oscar, MEISS Roberto, FERNÁNDEZ Gabriela, RUBEL Carolina, GÓMEZ Sonia, ISTURIZ Martín, PALERMO Marina, DRAN Graciela.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

El crecimiento renal compensatorio (CRC) consiste en el aumento del tamaño y la funcionalidad del riñón remanente luego de la uninefrectomía (Unx). Se utilizó el modelo de CRC para estudiar los mecanismos patogénicos de la toxina Shiga-2 (Stx) en el desarrollo del SUH. Se sometió a ratones BALB/c a Unx, y una vez establecido el CRC (48 hs) se administró una dosis letal 50 de Stx. Se determinó que la Unx redujo significativamente el daño renal inducido por Stx a las 72 hs (urea plasmática mg%: 379±92 vs 156±69*) y aumentó los porcentajes de sobrevida a las 98 hs (25% vs 100%*) (*:Stx-Sham-operados vs Stx-Unx; *p<0.01, n=12). Histológicamente, el tratamiento con Stx indujo menor daño tubular y glomerular en riñones de animales Unx que en aquéllos no nefrectomizados. Dado que el óxido nítrico (NO) es un vasodilatador endógeno involucrado en diversos procesos regenerativos, se evaluó su participación en el CRC. Se inhibió la síntesis endógena de NO mediante la administración de L-NAME durante el CRC. Se observó que en ausencia de NO, el CRC no fue completo (% de aumento del riñón remanente a los 15 días post-Unx: 32±6 vs 15±5, Unx vs Unx+L-NAME; p<0,01, n=6). Asimismo, en ausencia de NO, la protección que genera la Unx frente al daño renal y mortalidad mediados por Stx fue parcial (% sobrevida a las 98 hs: 66%). Los datos sugieren que el estado endógeno en que se encuentra el riñón durante el CRC hace al tejido más resistente a los efectos tóxicos de la Stx.

392. (1083) ENFERMEDAD DE FABRY EN PACIENTE DE 20 AÑOS. PROYECCIÓN FAMILIAR. FERNANDEZ SEGUNDO, NICHELLI Liliana, HUMBERTO Flores.

Centro Integral Privado de Enfermedades Renales, Catamarca

Fabry es una enfermedad genética recesiva ligada al X, debida a la deficiencia de la actividad de la enzima lisosomal alfa-galactosidasa-A, que produce la acumulación de globotriaosilceramida en endotelio vascular, epitelio y endotelio de riñón, corazón, piel, sistema nervioso autónomo y cerebro. Se manifiesta con acroparestesias, angioqueratomas, edemas, proteinuria, insuficiencia renal, opacidades en córnea y cristalino, vasos retinales tortuosos, hipertrofia ventricular izquierda. Se presenta un caso de un varón de 20 años de edad que acude a la consulta por presentar edemas, lesión en la piel y dolores musculares en pierna. El paciente presenta proteinuria de 1,13g/24hs y proteínas totales de 6,01 g/dl. En el fondo de ojo se observa aumento de tortuosidad vascular con disminución del calibre vascular y compresión A-V. La ecografía muestra ambos riñones eutópicos, con aumento de tamaño y de ecogenicidad del parénquima. La observación microscópica de la biopsia renal revela células epiteliales, endoteliales y mesangiales espumosas. En el dosaje de actividades de enzimas lisosomales se encuentra una disminución para la alfa-galactosidasa A. Se establece el diagnóstico de certeza de enfermedad de Fabry, en un joven que aun no sufre de insuficiencia renal, y que mediante tratamiento de reemplazo no progresará. Al ser una enfermedad genética ligada al X, se realizó la determinación enzimática a hermanos y tíos, encontrándose hasta el momento 4 casos en la misma familia.

393. (1159) ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE LA SUBUNIDAD B DE LA TOXINA SHIGA TIPO 2 SOBRE CÉLULAS EPITELIALES DE CORTEZA RENAL HUMANA. SILBERSTEIN CLAUDIA MARCELA, PISTONE CREYDT Virginia, DEL SORDO Martín, ZOTTA Elsa, IBARRA Cristina.

Laboratorio de Fisiopatología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina - UBA -

E. coli enterohemorrágica (EHEC) productora de toxina Shiga tipo 1 y 2 (Stx1, Stx2) está asociada al desencadenamiento de la insuficiencia renal observada durante el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos citotóxicos de la subunidad B de la toxina Shiga tipo 2 (Stx2B) pura, en cultivos celulares de corteza renal humana. Los cultivos primarios se obtuvieron a partir de células epiteliales provenien-

tes de fragmentos de riñón de pacientes adultos intervenidos quirúrgicamente en el Servicio de Urología del Hospital de Clínicas. Las células se incubaron con distintas dosis de Stx2B ó Stx2 durante 24 hs y 72 hs. Para evaluar la actividad citotóxica se observó la morfología celular por microscopía óptica, la viabilidad celular mediante la incorporación del colorante rojo neutro y la apoptosis por citometría de flujo y microscopía de fluorescencia. Stx2B produjo leves alteraciones de la morfología celular, mientras que disminuyó significativamente la viabilidad celular tanto a 24 hs como a 72 hs., dependiendo de la dosis. Los efectos citotóxicos de Stx2B fueron significativamente menores a los observados en presencia de la holotoxina Stx2. Estos resultados indican que la subunidad B de Stx2 tiene un efecto citotóxico per se en las células tubulares del riñón humano, lo que lleva a postular que dicha subunidad participa activamente en los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan la insuficiencia renal.

394. (1173) EFECTO DE ANP, GMPc Y ET-3 SOBRE LA ACTIVIDAD DEL COTRANSPORTADOR SODIO - GLUCOSA RENAL Y SOBRE EL ENTORNO LIPÍDICO EN EL QUE SE ENCUENTRA. MAJOWICZ MONICA, GONZALEZ BOSCH Laura, ORTIZ María, ALBERTONI Florencia, DELGADO Florencia, SPEZIALE Emir, VIDAL Norberto.

Cátedra de Biología Celular e Histológica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biología Celular e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

Se usaron vesículas de membrana luminal (VML) de corteza renal de ratas Wistar macho para estudiar el efecto del ANP, GMPc y ET-3 sobre: 1) la captación de alfa metil glucosa (MG) mediada por el SGLT2 y 2) el perfil fosfolipídico (PL) de las mismas. Las cortezas se incubaron en medio Krebs con y sin ANP 0.5 uM, GMPc 0.1 mM o ET-3 0.09 uM, a 37° durante 20 minutos. Las VML se purificaron por centrifugación diferencial. La captación de MG (nmoles/min/mg proteína) se midió durante 20 seg en presencia de 0.3 nmoles de MG radiactiva. El perfil PL se determinó mediante cromatografía en capa delgada. Resultados: La captación de MG en las VML control fue 18.06±1.05 (n=11) vs. 7.62±1.40 (n=7) para ANP, 6.88±1.53 (n=11) para GMPc y 5.72±1.77 (n=8) para ET-3, (ANOVA: p<0.001). El análisis del perfil PL permitió observar que: a) las VML están enriquecidas en esfingomiolina (SM): 27.5% en VML control vs. 10% en membrana total, lo cual concuerda con su ubicación luminal y b) la incubación con ANP aumentó 22.6% los PL ácidos: fosfatidil inositol (PI) y fosfatidil serina (PS); la incubación con GMPc redujo 10.6% la SM y aumentó 7.8% la fosfatidil colina (PC) y la incubación con ET-3 disminuyó SM 14.2% y aumentó PC 18.0%, respecto a los controles. Estos resultados indican que el ANP, el GMPc y la ET-3 inhiben al SGLT2 de la membrana apical de las células de corteza renal y que dicho efecto podría estar relacionado con cambios en la distribución de lípidos en el entorno del transportador.

NEUROCIENCIAS IV

395. (259) VARIACIONES CEREBRALES DEPENDIENTES DE LA EDAD EN AMBOS SEXOS. MERLO Alicia, GÓMEZ Elena, MIÑO Jorge, INGRATTA Adriana, MASCITTI Tomás, CANCELA Marcial, ALBANESE Alfonso, ALBANESE Eduardo.

Facultad de Medicina, Universidad del Salvador, Facultad de Medicina. UBA. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Hospital Francés, Buenos Aires

El objetivo fue determinar variaciones de regiones cerebrales con la edad. En imágenes digitalizadas de resonancia magnética, una correspondiente al hemisferio derecho y otra al izquierdo del cerebro, equidistantes del plano sagital medio, de 98 sujetos humanos normales diestros de ambos sexos de edades entre 17 y 84 años se marcaron los puntos más distantes entre sí del borde interno del cuerpo calloso (punto a o anterior y p o posterior) que limitaban el segmento que denominamos C. Se trazaron en las imágenes correspondientes a ambos hemisferios el segmen-

to A, desde el punto a hasta el polo frontal del cerebro, y el P desde el punto a hasta el polo occipital. Se midieron sus longitudes y se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson (r) entre edad y longitud de los segmentos. En el hemisferio derecho e izquierdo en el grupo masculino son estadísticamente significativos los r entre edad y C (0.46 y 0.37) y edad y A (-0.57 y -0.54) y en el grupo femenino los r entre edad y C (0.60 y 0.50), edad y A (-0.74 y -0.73) y edad y P (0.42 y 0.48). El aumento del segmento C, solidario con el diámetro anteroposterior del ventrículo lateral, es simultáneo al acortamiento del A, relacionado con el lóbulo frontal. El P, relacionado con la zona parieto-temporo-occipital, aumenta sólo en la mujer. Con el avance de la edad, en ambos sexos, se observaron variaciones cerebrales en distinto sentido dependiendo de la región.

- 396. (265) LA SUPERFICIE DEL CEREBELO EN EL PLANO SAGITAL MEDIO EN IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA: INFLUENCIA DE LA EDAD.** MERLO Alicia, ALBANESE Eduardo, GÓMEZ Elena, INGRATTA Adriana, MIÑO Jorge, MASCITTI Tomás, SAUBIDET Adolfo, ALBANESE Alfonso.

Facultad de Medicina, Universidad del Salvador. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA., Facultad de Medicina, UBA. Hospital Francés, Buenos Aires

El objetivo de este trabajo es parte de una investigación orientada a determinar en ambos sexos aspectos de modalidades de evolución de estructuras cerebrales con la edad. El presente estudio está dirigido a la medición de la superficie del cerebelo (CER) en imágenes digitalizadas de resonancia magnética del plano sagital medio (PSM) de 98 sujetos normales diestros de ambos sexos de 17 a 84 años de edad y a la determinación de los coeficientes de correlación de Pearson (r) y su significación estadística entre la edad y dicha superficie. El r ($p < 0.01$) es para el sexo masculino -0.47 y para el femenino -0.40. Indicando que la superficie del CER en el PSM tiende a disminuir con el avance de la edad en forma lenta e ininterrumpida. Por otra parte, resultados obtenidos de la medición del cuerpo calloso (CC) en el PSM de los mismos cerebros, que confirman los de un trabajo anterior (SAIC 2001), muestran que la superficie del CC incrementa entre los 17-40 años, se mantiene estable entre los 41-60 años y decrece rápidamente a partir de los 61 años. Concluimos que en el PSM la modalidad de variación de la superficie del CER con la edad (disminución lenta e ininterrumpida en ambos sexos) es diferente a la del CC medida en el mismo plano de los mismos cerebros.

- 397. (269) RELACIONES DE DOMINANCIA EN LOBULOS CEREBRALES.** ALBANESE Alfonso, MERLO Alicia, INGRATTA Adriana, MIÑO Jorge, MASCITTI Tomás, SAUBIDET Adolfo, ALBANESE Eduardo, GÓMEZ Elena.

Facultad de Medicina, Universidad del Salvador Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Facultad de Medicina, UBA. Hospital Francés, Buenos Aires

La relación de dominancia (rD) cuantifica la dominancia de grupos de estructuras bilaterales, considerando los valores relativos de asimetría, expresada en una cifra, con significación estadística (Merlo y col. Rev. Chil. de Anat 19: 5-10, 2001). La rD está basada en la correlación no paramétrica de Spearman (rango entre -1 y +1). Las variables que correlacionan son valores de lateralidad con su signo y valores de lateralidad absolutos. El signo de la rD resulta negativo si la dominancia es izquierda y positivo si es derecha. El objetivo fue determinar en imágenes de resonancia magnética (RM) la rD en lóbulos cerebrales. Se midieron en imágenes digitalizadas de RM de planos parasagittales del cerebro equidistantes del plano sagital medio los segmentos A, P y C relacionados respectivamente al lóbulo frontal (LF), región parieto-temporo-occipital (RPTO) y ventrículos laterales (VL) de sujetos normales diestros, 34 masculinos y 64 femeninos, del mismo rango de edades cuyas medias \pm ES son 46.65 ± 3.44 y 47.23 ± 2.28 años. En el grupo masculino y femenino respectivamente las rD son para el segmento A 0.39 ($p < 0.05$) y 0.50 ($p < 0.001$), para el P -0.75 ($p < 0.001$) y -0.59 ($p < 0.001$), y para el C -0.34 ($p < 0.05$) y -0.34 ($p < 0.05$). Se concluye que, en ambos sexos, coincidiendo con

estudios sobre volúmenes, el segmento relacionado al LF presenta dominancia derecha a diferencia de los segmentos relacionados al RPTO y al VL cuyas dominancias son izquierdas.

- 398. (558) CARACTERIZACION COMPARATIVA DE ANTICUERPOS ANTI-GM1 DE PLASMA HUMANO NORMAL Y DE PACIENTES CON SINDROME DE GUILLAIN-BARRE.** LARDONE RICARDO, LOPEZ Pablo, NORES Gustavo.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba

Anticuerpos IgG anti-GM1 son encontrados en títulos variables en pacientes con Síndrome de Guillain-Barré (pSGB), y aunque su rol primario en la enfermedad fue ampliamente demostrado, aún se ignora su origen. En plasma humano normal (PHN) existen anticuerpos IgM anti-GM1 (que también reconocen GA1 y GD1b) de baja afinidad y sin actividad biológica mediada por GM1. Ante el hecho inusual de encontrar en un donante de sangre sano (MLS) anticuerpos anti-GM1 de isotipo IgG (IgGGM1), no observados hasta ahora en PHN, decidimos realizar estudios comparativos de afinidad y especificidad fina de anticuerpos anti-GM1 de PHN, MLS, y pSGB, usando: HPTLC-inmuntinción de GM1 y glicolípidos estructuralmente relacionados, inhibición de la unión por antígeno soluble, y columnas de afinidad con GM1. Los anticuerpos anti-GM1 de PHN y MLS, aunque difieren entre sí en su isotipo, poseen similar especificidad y no se inhiben con preparaciones terapéuticas de IVIg. En tanto, los IgGGM1 de pSGB tienen diferente especificidad, afinidades de uno o más órdenes de magnitud mayores por GM1, y son inhibidos por IVIg. En la hipótesis "Binding Site Drift" (Lopez y col, Neurochem Res, 2002, 27: 687) postulamos que los IgGGM1 en neuropatías se originan por cambios de afinidad y/o especificidad, a partir de los IgM anti-GM1 de PHN. Los IgGGM1 de MLS, incapaces de inducir patología, representarían un estadio intermedio entre salud y neuropatía, siendo otra evidencia que apoya nuestra hipótesis.

- 399. (593) EFECTOS COMPARATIVOS DEL TRATAMIENTO PROLONGADO CON ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS EN PACIENTES ESQUIZOFRÉNICOS.** ZELASCHI NORBERTO, RODRIGUEZ Juana Leonor, GAITAN Sergio, PALACIOS VALLEJOS María Eugenia, PANIZZO Sergio, ARCHUBY Fernando, ZIEHER Luis María.

Dirección Asociada de Rehabilitación Hospital Neuropsiquiátrico "Dr. Alejandro Korn", Universidad Nacional de La Plata (UNLP)

Introducción: en este estudio presentamos evidencia clínica suplementaria de los efectos producidos luego del cambio de los antipsicóticos típicos (APT; ej: Haloperidol) por otros antipsicóticos atípicos (APA) en pacientes esquizofrénicos hospitalizados (criterio DSM IV). Todos los casos se ajustaron al criterio de resistencia al tratamiento (KANE 1988); el seguimiento completo se extendió durante 24 meses y las evaluaciones se realizaron mensualmente. Se usó la prueba de $X^2(2)$ para comparar éxitos vs. fracasos (recaída). Los pacientes fueron asignados por grupos al azar: Cloz(n=12), Ris(n=14), Olan(n=13). Método: se estudiaron 39 pacientes (edad promedio + DS: 48.20 ± 8.20), tratados con Clozapina (Cloz: rango, 200-400 mg/d), Risperidona (Ris: rango, 2-6 mg/d) y Olanzapina (Olan: rango, 20-60 mg/d); se utilizó la escala CGI (Clinical Global Impression) para monitorear la evolución y determinar las recaídas psicóticas. Resultados: recaídas observadas: a) primer año de seguimiento: Cloz(n=0), Ris(n=5), Olan(n=10); prueba de $X^2(2) = 17.02$; $p = 0.000$. b) segundo año de seguimiento: Cloz(n=0), Ris(n=11), Olan(n=11); prueba de $X^2(2) = 29.17$; $p = 0.000$. Estos resultados sugieren la superioridad de la Cloz, con relación a la Ris y a la Olan, particularmente durante los tratamientos por tiempo prolongado.

- 400. (603) INCIDENCIA DEL TRATAMIENTO PSICOFARMACOLÓGICO DE PACIENTES ESQUIZOFRÉNICOS CON DROGAS ANTIPSICÓTICAS SOBRE SU FUNCIONAMIENTO NEUROCOGNITIVO.** PALACIOS VALLEJOS MARÍA EUGENIA, ZELASCHI Norberto, RODRIGUEZ Juana Leonor, ZIEHER Luis María.

Hospital Neuropsiquiátrico Dr. A. Korn. Universidad Nacional de La Plata (UNLP) UBA

Introducción: En este estudio nosotros hipotetizamos una mejoría en la performance neurocognitiva de los pacientes tratados con antipsicóticos atípicos (APA), ej: clozapina y olanzapina, con relación a los tratados con antipsicóticos típicos convencionales (APT). Método: Se estudió un grupo de pacientes con APT (n=12), otro con APA (n=15) y un grupo de control no psicótico (GC) (n=10). Se usaron las técnicas de evaluación neuropsicológica MMSE, el test de Atención "A Test", el WAIS III y el WCST. Se empleó el test de ANOVA no paramétrico (Kruskall-Wallis) para las diferencias entre grupos y para buscar las diferencias existentes entre pares de grupos, se realizó la comparación de las medias de los rangos. Todos los valores se expresan en promedio +/- 1 DS. Resultados: No existió diferencia significativa en las edades entre los grupos; APT=42.2 (10.4); APA=47.8 (11.9); GC=38.0 (14.20), p=0.1086. Se observó diferencias significativas en la Memoria de Trabajo (MT): APT=74.33 (14.28), APA=88.2 (9.65), GC=102.1 (13.14); p=0.0000. También en la Función Ejecutiva (FE): APT=4.41 (4.16), APA=10.46 (5.05), GC=11.6 (5.79); p=0.0115. Estos resultados tienden a confirmar que los pacientes tratados con APA presentan una mejoría del funcionamiento neurocognitivo, principalmente en la MT y en la FE. Estos resultados sugieren la importancia de la evaluación neuropsicológica en pacientes con tratamientos prolongados admitidos en programas de rehabilitación psicosocial.

- 401. (641) LA ALFA-MSH ATENUA EL AUMENTO DE LA OXIDO NITRICO SINTASA INDUCIBLE (iNOS) HIPOTALAMICA INDUCIDO POR CITOQUINAS INFLAMATORIAS.** CARUSO CARLA MARÍA-NA, LASAGA Mercedes, JAITA Gabriela, SEILICOVICH Adriana.

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, UBA

El óxido nítrico (NO) es un mediador de los procesos inflamatorios. Las citoquinas proinflamatorias estimulan la producción de NO en las células gliales. Ha sido demostrada la presencia de las 3 isoformas de la NO sintasa (NOS) en hipotálamo: la inducible (iNOS), la neuronal (nNOS) y la endotelial (eNOS). Por otro lado, la hormona melanocito estimulante (alfa-MSH) tiene efectos antiinflamatorios en macrófagos y células gliales. En este estudio investigamos el efecto de distintas citoquinas sobre los niveles de mRNA de iNOS y nNOS (determinados por RT-PCR) en hipotálamo de ratas machos, como así también el posible papel modulador de la alfa-MSH en los cambios inducidos por las citoquinas. Explantes hipotalámicos que contenían la eminencia media, el núcleo arcuato y el periventricular fueron incubados en presencia de lipopolisacárido bacteriano (LPS) (10ug/ml), IL-6 (100ng/ml), LPS+IL-6, LPS+interferon (IFN)-gamma (100ng/ml) durante 5 horas. Se observó un aumento en la expresión de iNOS solo en el grupo tratado con LPS+IFN-gamma. La presencia de alfa-MSH (1uM) en el medio de incubación disminuyó el aumento de la expresión de iNOS inducidos por LPS+IFN-gamma (Control: 0.03, LPS+ IFN-gamma: 0.83, LPS+ IFN-gamma+alfa-MSH: 0.65, unidades arbitrarias de iNOS con respecto a beta actina). Los niveles de nNOS no fueron afectados en ninguna de las condiciones estudiadas. Los resultados sugieren que la alfa-MSH podría modular mecanismos antiinflamatorios locales en el hipotálamo.

- 402. (786) EFECTOS NEUROQUÍMICOS Y ELECTROFISIOLÓGICOS DE NEUROESTEROIDES EN LA RETINA DE HÁMSTER DORADO.** JALIFFA CAROLINA, MINCES Luciana, HOWARD Sarah, BENOZZI Jorge, ROSENSTEIN Ruth.

Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, U.B.A

Los neuroesteroides (NEs) facilitan o inhiben la respuesta GABAérgica asociada al receptor de tipo GABA A. Teniendo en cuenta que el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio retiniano, se examinó el efecto neuroquímico y electrofisiológico de dos NEs: pregnenolona sulfato (PS) y THDOC, moduladores GABAérgicos negativo y positivo, respectivamente. La PS esti-

muló la liberación fraccional de ((3))H-GABA inducida por K((+)) (0.152 ± 0.07 vs 0.198 ± 0.010) así como el uptake de ((3))H-GABA (14 ± 1 vs 20.3 ± 1 fmol/mg tej) en tanto que THDOC disminuyó ambos parámetros (0.152 ± 0.01 vs 0.105 ± 0.01 y 14 ± 1 vs 7 ± 0.6 fmol/mg tej, respectivamente). En cuanto al efecto postsináptico, la PS disminuyó y el THDOC aumentó el uptake de ((36))Cl- inducido por GABA en sinaptoneurosomas retinianos (control: 1071 ± 98; PS: 654 ± 84, THDOC: 1783 ± 111 nmol/mg prot). La función retiniana se evaluó a través de estudios del electroretinograma (ERG). La PS disminuyó la amplitud la onda b (80 ± 6µV vs 38 ± 6µV) en tanto que el THDOC no tuvo efectos sobre este parámetro. La vigabatrina (VGB), un inhibidor irreversible de la degradación de GABA disminuyó la amplitud de las ondas a y b (onda a: 65 ± 5 µV vs 18 ± 3 µV; onda b: 134 ± 10µV vs 44 ± 8µV, control y VGB, respectivamente). Estos resultados indican que los NEs pueden modular en forma significativa la pre- y la postsinapsis GABAérgica retiniana, así como la actividad electroretinográfica

- 403. (813) VALOR LATERALIZADOR DE LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN EPILEPSIA TEMPORAL.** GIAGANTE BRENDA, SILVA Walter, ODDO Silvia, CONSALVO Damian, SALGADO Pablo, SAIDON Patricia, CENTURION Estela, SOLIS Patricia, KOCHEN Silvia.

Centro de Epilepsia, Hospital "JM Ramos Mejía". CONICET. Instituto de Biología Celular y Neurociencias Dr. De Robertis, Facultad de Medicina, UBA

Introducción: A través de la Video-EEG se puede analizar en forma precisa el comportamiento ictal y postictal durante las crisis epilépticas. **Objetivo:** determinar el valor lateralizador de manifestaciones clínicas en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal (ELT). **Material y Metodo:** Revisamos los registros de video-EEG ictales de pacientes con ELT en los que se realizó cirugía de la epilepsia y presentaron una evolución post-quirúrgica clase I de Engel. Analizamos el valor lateralizador de las manifestaciones clínicas observadas. Calculamos la frecuencia de presentación y el valor predictivo positivo (VPP) de lateralidad de cada una de las manifestaciones analizadas. **Resultados:** Analizamos 81 crisis en 29 pacientes. El 58.2% de los pacientes presentaron auras. Las auras más frecuentes fueron: sensación epigástrica (60.8%), miedo (34.7%), sensación diferente (26%). Ninguna de las auras analizadas presentó valor para lateralizar la ZE. Los síntomas más frecuentes con mayor VPP (p < 0.005) observados en las crisis fueron: automatismos manuales unilaterales (54.3% VPP 88%); inmediata recuperación postictal (37% VPP 75%); vocalización ictal comprensible (35.8% VPP 80%); frote de nariz (32% VPP 92%); postura distónica unilateral (29.6% VPP 87%); afasia postictal (27% VPP 90%). **Conclusiones:** El análisis de la semiología presente durante las crisis de epilepsia resulta una herramienta de gran utilidad para lateralizar la Zona epileptógena en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal

- 404. (992) ANÁLISIS DE LA TAREA DE DENOMINACIÓN POR CONFRONTACIÓN VISUAL EN PACIENTES CON EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL.** ODDO SILVIA, SOLIS Patricia, CONSALVO Damian, SILVA Walter, GIAGANTE Brenda, CENTURION Estela, SAIDON Patricia, KOCHEN Silvia.

Centro de Epilepsia. División Neurología. Hospital Ramos Mejía. CONICET. Instituto de Biología Celular y Neurociencias Prof Dr. De Robertis. Facultad de Medicina, UBA

Analizamos los resultados del test de denominación por confrontación visual de Boston (TDCV) (memoria verbal semántica) antes y después de la cirugía. Se incluyeron 18 pacientes (p) con epilepsia temporal refractaria y lesión mesial en las imágenes por resonancia magnética. En todos los p. se realizó una lobectomía temporal anterior. Fueron evaluados con el protocolo de evaluación neuropsicológica antes y 6 meses luego de la cirugía. Se excluyeron p. con signos y síntomas afásicos y CI menor de 70. Los datos obtenidos fueron comparados con la población normal de acuerdo a edad y escolaridad. Se utilizó el test de chi cuadrado y el test de Pearson. Diez p. presentaron déficit en el TDCV

comparados con la población normal. Analizando los resultados antes y después de la cirugía encontramos que en 11 p. se realizó una lobectomía temporal anterior derecha (LTAD) y luego de la cirugía 8p. mejoraron en forma no significativa. Tres p. empeoraron en forma no significativa. En 7 p. se realizó una lobectomía temporal anterior izquierda (LTAI). Luego de la cirugía 3p. mejoraron en forma no significativa, 2 p. sin cambios y 2 empeoraron. Uno de estos 2 p. presentó déficit significativo ($p < 0.03$). No se encontró correlación con otras variables. La lobectomía temporal puede producir déficits en el TDCV. En nuestra población no fue posible definir un perfil post-quirúrgico. Se discutirá el rol del hipocampo en el procesamiento de la memoria verbal semántica y su relación con el lenguaje.

- 405. (1042) AUMENTO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE LA MOLÉCULA DE ADHESIÓN NEURAL NCAM EN PACIENTES CON DEMENCIA TIPO ALZHEIMER.** TODARO LAURA, PURICELLI Lydia, GIOSEFFI Hernán, PALLOTA Guadalupe, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa, VARELA Mirta, SACERDOTE DE LUSTIG Eugenia.

*Area Investigación del Instituto de Oncología "A. H. Roffo"
Departamento de Oncología Clínica del Hospital Italiano de Buenos Aires*

NCAM promueve la adhesión homo y heterofílica de las neuronas y se la ha implicado en la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria. El objetivo de este trabajo fue medir los niveles de NCAM sérico en pacientes con déficit cognitivo como la Demencia tipo Alzheimer (DAT) ($n=43$, Md edad 82, rango 59-95). Estos valores, en unidades arbitrarias (UA), se compararon con los obtenidos en individuos sanos del mismo rango de edad ($n=36$, edad 70, 55-87). NCAM se cuantificó por Western blot y densitometría con un mAb que revela bandas de alto (HMW, >130 kDa) y bajo PM (LMW). Se encontraron valores aumentados de NCAM en DAT respecto de los controles, tanto para LMW [0,70 (0,56-18,62) vs 0,35 (0-1,34), $p < 0,01$] como para HMW [1,18 (0,14-6,24) vs 0,82 (0-2,0), $p < 0,01$]. Se seleccionaron valores de corte para las isoformas LMW y HMW correspondientes al percentilo 70 del control. El 55% de los DAT presentan niveles elevados de LMW y HMW vs el 28% de los controles ($p < 0,05$). Sólo los valores elevados de LMW se asociaron con la severidad del deterioro cognitivo (escala GDS, 33% en moderados vs 55% en altos) y con el tiempo de evolución (47% en los de corta evolución vs 100% en aquéllos con más de 6 meses de enfermedad). Se concluye que, las patologías neurodegenerativas presentan niveles séricos elevados de NCAM. Además el aumento específico de la NCAM de LMW podría ser útil como marcador de seguimiento del paciente, lo cual facilitaría el diagnóstico y el tratamiento en etapas tempranas.

- 406. (1056) ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA(ELA) Y PARAPROTEINEMIA.** MANNUCCI PABLO, VILLA Andrés, SAIZAR Roberto, DI EGIDIO Marianna, SICA Roberto, RAMOS Silvia Graciela, DI LONARDO Ana María.

Unidad Inmunología. Hospital Carlos Durand. División Neurología. Hospital Ramos Mejía, Buenos Aires

Introducción: la ELA, enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta a la neurona motora, se asocia en algunos casos a la presencia de paraproteínas en el suero (Shy y col., 1986; Younger y col., 1990; Duarte y col., 1991). El rol patogénico de esta paraproteinemia se desconoce actualmente. Objetivo: demostrar la presencia de paraproteínas en el suero de pacientes con diagnóstico de ELA. Material y métodos: se realiza un estudio prospectivo, transversal y observacional en 27 pacientes con diagnóstico de ELA siguiendo los criterios diagnósticos establecidos por El Escorial 1994 y modificado por Arlie house en 1998. Se efectúa proteinograma electroforético (PxE) en gel de agarosa, cuantificación de IgG, IgA, IgM, Kappa y Lambda por nefelometría cinética (Array 360 System, Beckman) e inmunofijación electroforética en gel de agarosa (IFE) con antisueros monoespecíficos en el suero de los pacientes estudiados. Resultados: en los 27 pacientes estudiados el PxE en gel de agarosa no mostró bandas homogéneas en la zona de las gamma

globulinas, los valores promedios de la cuantificación de gamma globulinas fueron: gamma globulinas: 1,49g/dl (V.R.: 0,80-1,80); IgG: 1114mg/dl (V.R.: 844-1912); IgA: 270mg/dl (V.R.: 68-426); IgM: 161mg/dl (V.R.: 50-196); Kappa: 1003mg/dl (V.R.: 574-1276); Lambda: 480mg/dl (V.R.: 269-638) y Kappa/Lambda: 2,11 (V.R.: 1,57-2,95), y la IFE en gel de agarosa mostró policlonalidad. Conclusión: en esta casuística se demuestra la ausencia de bandas monoclonales en el suero de pacientes con diagnóstico de ELA.

PROLIFERACIÓN Y MUERTE CELULAR I

- 407. (439) LOCALIZACIÓN, EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE LA GLICERALDEHÍDO 3 FOSFATO DESHIDROGENASA (GAPDH) EN HEPATOCITOS PRIMARIOS PROLIFERANTES Y APOPTÓTICOS.** BARBINI LUCIANA, GONZALEZ Rosario, DOMÍNGUEZ Fernando, CASABIELL Xesús, DE LA CRUZ Luis, VEGA Félix.

Departamento de Fisiología. Universidad de Santiago de Compostela, España

Para estudiar la localización, expresión y actividad de la GAPDH en hepatocitos primarios proliferantes (P) y apoptóticos (A), éstos se cultivaron en presencia de HGF o TGF-beta1, respectivamente. La localización subcelular se determinó por microscopía confocal, la expresión y la actividad glicolítica por Western Blot (WB) y el método cinético, respectivamente, ambos en núcleos y citoplasmas. La GAPDH presentó ubicación citoplasmática en las células quiescentes (Q) y P. En algunos casos las células A mostraron localización nuclear, además de citoplasmática. Los cuerpos apoptóticos mostraban un fuerte marcaje de GAPDH. Por WB, se obtuvieron aumentos significativos de la expresión de GAPDH en los núcleos A (10,76 \pm 1,25; $p < 0,001$), con respecto a los controles Q (4,84 \pm 0,67). En los citoplasmas, los aumentos significativos se produjeron en los P (17,47 \pm 2,67; $p < 0,001$) y A (13 \pm 1,06; $p < 0,01$), comparando con los Q (8,74 \pm 1,83). La actividad glicolítica en los núcleos Q fue indetectable y casi indetectable en los P. En los A se detectaron aumentos (26,51 \pm 12,75; $p < 0,01$), con respecto a las Q controles. En los citoplasmas la actividad aumentó en los P (227,35 \pm 61,09, $p < 0,001$), comparados con los Q (26,35 \pm 11,16). La apoptosis de los hepatocitos induce una sobre-expresión de la GAPDH, aumentos en el citoplasma, traslocación al núcleo y mantenimiento de su actividad glicolítica. La proliferación induce un aumento en la expresión y la actividad de la GAPDH citoplasmática.

- 408. (491) LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR CADMIO, EN CÉLULAS DE LA ADENOHIPÓFISIS, ES DEPENDIENTE DE CASPASA-3 Y PROCESOS OXIDATIVOS.** BENITEZ ARIEL H., CABILLA Jimena, VELARDEZ Miguel, BODO Cristian, DUVILANSKI Beatriz.

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Priamente reportamos que el cadmio (Cd) induciría apoptosis en células adenohipofisarias en cultivo de ratas macho, cepa Wistar. Objetivo: evaluar posibles mecanismos por los cuales el Cd causa dicho efecto. Se determinó el tiempo mínimo a partir del cual el efecto del Cd sobre la viabilidad celular (AC) se hacía irreversible (Método de MTT). Las células se incubaron durante tiempos variables con Cd 25 μ M y luego con medio fresco sin Cd hasta completar las 48 h de iniciado el tratamiento. El efecto citotóxico del Cd fue irreversible a partir de las 3 h de exposición (AC abs 600 nm, Control: 0.242 \pm 0.014, Cd: 0.196 \pm 0.012*; $p < 0.05$ vs control). La liberación de prolactina (RIA) también disminuyó luego de 3 h de exposición al Cd. DEVD-CHO (IC3), inhibidor de caspasa-3, revirtió el efecto del Cd 25 μ M sobre la AC (Control: 0.294 \pm 0.02, Cd: 0.212 \pm 0.01**, IC3 0.1 μ M: 0.303 \pm 0.01, IC3+Cd: 0.251 \pm 0.01^, ** $p < 0.001$ vs Control, ^ $p < 0.05$ vs Cd). El efecto del Cd sobre la AC también fue antagonizado por antioxidantes: n-acetil-cisteína (Control: 0.232 \pm 0.008, Cd: 0.183 \pm 0.006**, NAC 5 mM: 0.268 \pm 0.006**, NAC+Cd: 0.238 \pm 0.004^; ** $p < 0.001$ vs

Control, $^{**}p < 0.001$ vs Cd) y TROLOX® (Control: 0.234 ± 0.008 , Cd: $0.164 \pm 0.009^{**}$, TR 0.1 mM: 0.242 ± 0.005 , TR+Cd: $0.222 \pm 0.006^{**}$, $^{**}p < 0.001$ vs Control, $^{**}p < 0.001$ vs Cd). Estos resultados sugieren que el efecto proapoptótico del Cd estaría mediado por activación de la caspasa-3 y que los antioxidantes son efectivos en el rescate del efecto citotóxico del Cd.

409. (526) EL GLUTAMATO INDUCE APOPTOSIS DE CÉLULAS ADENOHIPOFISARIAS EN CULTIVO A TRAVÉS DE LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DEL GRUPO II. BOTTINO MARÍA CECILIA, PAMPILLO Macarena, DUVILANSKI Beatriz, SEILICOVICH Adriana, LASAGA Mercedes.

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, UBA

Previamente demostramos que el glutamato (Glu) a través de sus receptores metabotrópicos (mGluR) del grupo II disminuye la liberación de prolactina. En este estudio hemos examinado la viabilidad celular (determinada por el método de MTT) y la apoptosis (determinada por TUNEL) en células adenohipofisarias de ratas hembras cultivadas en presencia de Glu (1mM) durante 24 hs. El Glu produjo una disminución significativa en la viabilidad celular (absorbancia a 600 nm) (C: 0.350 ± 0.010 , Glu: 0.266 ± 0.013 , $n=8$, $p < 0.01$) Este efecto inhibitorio no fue observado en presencia de EGLU, un antagonista específico de los mGluR del grupo II. El LCCG-I y el LY 354740 (750 μ M), agonistas específicos de los mGluR del grupo II también disminuyeron la viabilidad celular (C: 0.274 ± 0.003 , Ly 354740: 0.229 ± 0.003 LCCG-I: 0.220 ± 0.007 , $n=8$, $p < 0.01$). Ni NMDA ni AMPA, agonistas ionotrópicos del glutamato, produjeron modificaciones en la viabilidad celular. El Glu aumentó el porcentaje de células TUNEL positivas (C 13.16%, Glu 26.35%, $p < 0.001$, chi cuadrado). La presencia de la subunidad mGluR2/3 fue localizada en lactotrofos por inmunocitoquímica. Nuestros resultados indican que el glutamato induce muerte por apoptosis de células adenohipofisarias. Este efecto sería ejercido a través de mGluR del grupo II. La presencia de mGluR del grupo II en lactotrofos sugiere que los efectos inhibitorios sobre la secreción de prolactina podrían deberse a la acción proapoptótica del glutamato.

410. (596) NO Y PROTEINAS PRO Y ANTIAPOPTOTICAS EN EL PROCESO DE REGENERACION HEPATICA. RONCO TERESA, ALVAREZ Lujan, MONTE Juan, CARRILLO Cristina, PISANI Gerardo, LUGANO Cristina, CARNOVALE Cristina.

Instituto de Fisiología Experimental. Fac de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Cátedra de Morfología. Fac de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR

Introducción: Previamente, demostramos que el aumento de NO a las 5 horas post-hepatectomía modula el proceso de regeneración hepática. Con el objetivo de caracterizar el mecanismo de acción de NO en el proceso de regeneración hepática; se analizó la influencia del aumento de NO en los niveles de las proteínas Bax (proapoptótica) y Bcl-xL (antiapoptótica). Métodos: Ratas Wistar machos adultos fueron sometidas a una hepatectomía parcial del 65%. Se las dividió en dos grupos ($n=5$): Control (Hp-C) y Tratadas con un LPS (inductor de NOS2) 2 mg/kg PC i.p. (Hp-LPS). Las ratas fueron sacrificadas a las 5 horas luego de la cirugía. Resultados: El nivel de NOS2 mostró un aumento del 24% en los grupos Hp-LPS respecto de Hp-C. Se observó un aumento significativo de NO medido como contenido de nitratos citosólicos (nmoles de nitrato/mg de proteína): Hp-C: $8,9 \pm 1,2$; Hp-LPS $16,1 \pm 1,9^*$ ($^{*}p < 0,05$). En la fracción mitocondrial, se determinaron por Western-blot las siguientes proteínas: Bax (proapoptótica) que mostró un aumento del 56% en el grupo Hp-LPS respecto de Hp-C ($p < 0,05$); y Bcl-xL (antiapoptótica) que no mostró diferencias significativas entre los grupos estudiados. El índice apoptótico determinado por inmunohistoquímica mostró un aumento significativo en Hp-LPS respecto de Hp-C: Hp-C: $1,6 \pm 0,2\%$; Hp-LPS $2,8 \pm 0,4\%$ ($^{*}p < 0,09$). El aumento de NO por inducción de NOS2 por LPS post-hepatectomía, promueve el proceso de apoptosis mediado por la proteína proapoptótica Bax.

411. (597) EFECTOS MITOGÉNICOS Y ANTIMITOGÉNICOS DEL 17 β ESTRADIOL SOBRE CÉLULAS LACTOTROPAS DE RATA IN VITRO. GUTIÉRREZ SILVINA, AOKI Agustín, ORGNERO Elsa.

Centro de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Introducción y objetivos: La presencia de receptores para 17 β Estradiol (ES), Insulina (IN) y Factor de Crecimiento tipo IN (IGF-1) en hipófisis, indujeron a estudiar la acción de estas hormonas y su interrelación sobre células lactotropas in vitro, independientes de factores extrahipofisarios. Materiales y métodos: Cultivos primarios adenohipofisarios de ratas Wistar hembras, incubados con diferentes dosis de ES, IN e IGF-1 solos o combinados, durante 48 y 72h en medios con y sin suero. Se adicionaron bloqueantes de receptores: genisteína y tamoxifeno. Se cuantificó estadísticamente (ANOVA-Fisher) la proliferación de lactotropas con doble inmunomarcación: bromodeoxiuridina y prolactina. Se estudiaron las características ultraestructurales. Resultados: El ES incrementó la proliferación de lactotropas en cultivos con suero, efecto bloqueado por tamoxifeno. IN e IGF-1 estimularon la mitogénesis en ausencia de suero y su acción fue revertida por genisteína. Tratamientos combinados de ES con IN o IGF-1 mostraron niveles de proliferación similares o menores a los presentados con los factores solos, dependiendo de las dosis utilizadas. El ES demuestra acción mitogénica sobre las lactotropas cultivadas en presencia de suero. Combinado con IN o IGF-1 disminuye el efecto proliferativo causado por estos factores solos. El ES ejercería una acción mitogénica y antimitogénica sobre las lactotropas in vitro, dependiendo de la interacción con los factores de crecimiento presentes.

412. (663) EL EFECTO CITOTÓXICO DEL NO, EN CÉLULAS DE LA ADENOHIPOFISIS, ES DEPENDIENTE DE CASPASAS E INDEPENDIENTE DE PROCESOS OXIDATIVO-NITROSILANTES. CABELLA JIMENA, VELARDEZ Miguel, BENITEZ Ariel, BODO Cristian, DUVILANSKI Beatriz.

Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Previamente demostramos que el NO induce muerte celular en adenohipofisis de ratas hembras (cepa Wistar). Objetivo: Examinar los tipos celulares afectados por el NO. Estudiar posibles mecanismos de acción del NO. Los estudios inmunocitoquímicos mostraron que el tipo celular más afectado por el tratamiento con DETA/NO 1 mM por 48 h fueron los lactotrofos (50 % del total de las células apoptóticas). El efecto apoptótico del NO fue confirmado por observación de la fragmentación del ADN (electroforesis en gel de agarosa). El efecto del NO sobre la actividad celular (MTT) fue revertido parcialmente por LEHD-CHO y DEVD-CHO, inhibidores de caspasa 9 y 3 respectivamente (AC, control: 0.47 ± 0.01 , DETA/NO 1 mM: $0.293 \pm 0.01^*$, LEHD 10-5 M: 0.437 ± 0.01 , LEHD+DETA/NO: $0.341 \pm 0.01^*D$, DEVD 10-5 M: 0.436 ± 0.01 , DEVD+DETA/NO: $0.358 \pm 0.02^*D$, $^{*}p < 0.05$ vs control sin DETA/NO, $Dp < 0.05$ vs control sin inhibidor, ANOVA seguido de Student-Newman-Keuls). Por otro lado el efecto del NO no pudo ser revertido por TROLOX® un antioxidante soluble derivado de la vitamina E, ni por N-acetilcisteína, un antioxidante precursor del glutatión con la capacidad de prevenir la nitrosilación de proteínas. Estos resultados muestran que el efecto del NO sobre la viabilidad celular es tipo específico y que en dicho efecto estarían involucradas las caspasas 9 y 3. Los procesos oxidativos no parecen ser importantes en el efecto citotóxico del NO.

413. (702) PRESENCIA DE ELEMENTOS DE RESPUESTA A HORMONAS ESTEROIDES EN LA REGIÓN PROMOTORA DEL GEN BCL-X DE RATÓN. ROCHA VIEGAS LUCIANA, VICENT Guillermo, BARAÑO Lino, BEATO Miguel, PECCI Adali.

Dpto. Química Biológica, FCEyN-UBA Institut für Molekularbiologie und Tumorforschung, Philipps Universität, Marburg, Alemania.

Bcl-X codifica para varias isoformas proteicas con funciones opuestas en la apoptosis. Nuestro grupo demostró que los

progestágenos regulan la expresión de bcl-X. Recientemente demostramos que la región 5' del gen presenta 5 promotores (P1-P5). El objetivo del trabajo fue estudiar la acción progestágena sobre la actividad de esos promotores. Se contranfectó en células Cos-1, un vector que codifica para el receptor de progesterona humano (hPR) con vectores que expresan luciferasa bajo el control de P1, P2, P3, P4 ó P5. Los resultados mostraron que sólo la región de 636 pb que incluye a P4 respondió al progestágeno R5020 (6.0±0.1 veces vs. Control) y se bloqueó con el antagonista RU486. Analizando esta región se encontraron dos posibles sitios de respuesta a hormonas (HRE): uno, de -340 a -326 (HRE1) respecto del +1, es un medio palíndromo que difiere en una base con el HRE consenso. El otro, de -312 a -299 (HRE2), es un palíndromo con 3 bases diferentes al consenso. Por ensayos de retardo en geles se vió que el hPR interactúa específicamente con un fragmento de 77 pb que contiene ambos HREs pero no con uno que tiene los HREs mutados en sus guaninas. R5020 tampoco indujo la expresión de luciferasa bajo el control de P4 con los HREs mutados. De acuerdo con los resultados, se sugiere que los progestágenos inducirían la expresión de bcl-X a través de la interacción del complejo hormona-receptor con una región de respuesta a hormonas localizada en el promotor P4 del gen.

- 414. (911) EFECTO APOPTÓTICO DEL INHIBIDOR DE ABL-QUINASA STI571 EN LA LÍNEA CELULAR K-562.** VELLÓN LUCIANO, GONZALEZ CID Marcela, DE CAMPOS NEBEL Marcelo, LARRIPA Irene.

Depto de Genética, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

El inhibidor de Abl-quinasa STI571 mostró buenos resultados en pacientes con leucemia mieloide crónica refractaria al tratamiento con interferón. Con el objeto de estudiar los efectos de dicha droga sobre la apoptosis, ciclo celular y su especificidad de acción se utilizaron líneas celulares bcr/abl+ (K-562) y bcr/abl- (HL60 y U-937). La evaluación de la apoptosis por morfología en la línea K-562 a las 72 hs de cultivo a 0; 0,01; 0,05; 0,25; 0,5; 1 y 2,5µM fue X±SD: 4,9±1,2; 4,6±1,5; 4,8±1,3; 21,5±9,8; 21,9±3,7; 36,2±9,4 y 38,2±10,7 respectivamente (n:4). El STI571 no elevó la apoptosis en las líneas bcr/abl-. Se estudió el daño genético inducido por el STI571 mediante electroforesis de células individuales, observándose únicamente en la línea bcr/abl+ un alto grado de daño inducido (control: 16±6,1; STI571 2,5µM: 56,9±21,5). El análisis del contenido de ADN por citometría de flujo evidenció una disminución de células en S y G2/M a las 72 hs de cultivo a dosis de STI571 > 0,5µM. Cuando las células de la línea K-562 se trataron con STI571 en combinación con alguno de los siguientes antioxidantes: catalasa, superóxido-dismutasa, glutatión o amifostina, solamente este último elevó significativamente el porcentaje de apoptosis (control: 11,1±1,3; STI571 0,5µM: 28,9±8,1; amifostina: 16,3±3,4; STI571+amifostina: 58,8±4,5; a las 72 hs) (n:4). Estos datos sugieren que el STI571 induce apoptosis en forma específica en la línea K-562, aumentando este efecto en presencia de amifostina.

- 415. (1001) NIVELES DE EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE LA ESTEAROIL-COA DESATURASA (SCD) EN LA TRANSFORMACIÓN NEOPLÁSICA DE FIBROBLASTOS HUMANOS.** SCAGLIA NATALIA, CAVIGLIA Matias, IGAL Ariel.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata

Los ácidos grasos (AG) saturados y monoinsaturados son los más abundantes en las células de mamífero. Su contenido está determinado por la actividad de la enzima SCD. Se observó que algunas variedades de cáncer se asocian a una elevada síntesis de AG monoinsaturados, aunque una relación causal entre la expresión de la SCD y cáncer es aún desconocida. De este modo, iniciamos el estudio de la regulación de la SCD en los fibroblastos humanos normales WI38 y la línea neoplásica derivada SV40 WI38, a los que se trató con el agente pro-apoptótico etopósido (E). Así, la actividad SCD utilizando [14C]esteárico estuvo significativamente elevada en las células SV40 respecto de los controles (%conversión a [14C]oleico WI38=18.2±0.5 vs SV40=40.5±0.7, p<0.01). Este aumento se correlacionó con un aumento de ~2 veces en el nivel

de la proteína SCD. Asimismo, el tratamiento de las células SV40 con E decreció la actividad SCD (% conversión SV40=45.9±1.9 vs SV40+E=38.2±2.8 p<0.05). Se observó también un incremento de 2.5 veces en la relación oleico/ esteárico en la línea SV40 respecto de las células normales (WI38=0.84±0.10 vs SV40=2.1±0.1, p<0.01), mientras que la misma relación decreció ~20% en las células SV40 tratadas con E (1.79±0.04, p<0.05 vs SV40). Se concluye que una mayor expresión de la SCD es responsable del aumento en su actividad y en el contenido de AG monoinsaturados en las células transformadas. La inducción de apoptosis en las células SV40 tiende a revertir estos cambios.

- 416. (1073) LOS COACTIVADORES DE RECEPTORES NUCLEARES A TRAVÉS DE SU ACTIVIDAD ACETILASA PODRÍA EJERCER UN ROL ANTI-APOPTÓTICO.** COLO GEORGINA, NOJEK Ignacio M, TONELLI Luciana, COSTAS Monica A.

Instituto de investigaciones Medicas A. Lanari, UBA, Buenos Aires

Los coactivadores de receptores nucleares ejercen su acción, principalmente via actividad acetilasa y hemos demostrado que aumentan la actividad del factor de transcripción anti-apoptótico NF-κB. Estas moléculas, a veces sobreexpresadas en tumores mamarios podrían contribuir al desarrollo tumoral al menos, por disminución en la sensibilidad a apoptosis. Se estudio: 1-Efecto de inhibición de la actividad de-acetilasa por tricostatina A (TSA), 2-Aumento de actividad acetilasa por sobreexpresión de coactivador RAC-3 sobre la sensibilidad a la muerte por peróxido de hidrógeno en células HEK293 (viabilidad determinada por tinción de sobrevivientes con cristal violeta y lectura a 570 nm, mas observación microscópica). 3-Regulación en la expresión del gen supresor y pro-apoptótico p53 por western blot. Se observó: La TSA en dosis no apoptóticas (1,6nM), produjo una disminución significativa (52 +/- 2 %) en la muerte inducida por peróxido (9.2 nM) respecto de peróxido solo (77+/-1%). La sobreexpresión de RAC-3 tuvo un efecto similar: 34+/-2% de disminución de mortalidad respecto de células tranfectadas con vector vacío. Se correlacionó con una modulación en la expresión de p53, la cual se vio inhibida por aumento de la actividad acetilasa. Estos resultados demuestran que el aumento en la actividad acetilasa por sobreexpresión de coactivadores tendría un rol protector frente a señales de muerte celular y podría ser uno de los mecanismos de escape a la apoptosis en la célula tumoral.

- 417. (1106) EFECTO APOPTÓTICO DE TIROXINA SOBRE CELULAS DEL LINFOMA T MURINO BW5147. PARTICIPACIÓN DE OXÍDICO NITRICO SINTASA.** BARREIRO ARCOS MARÍA LAURA, GORELIK Gabriela, GADALETA Patricia, KLECHA Alicia, CREMASCHI Graciela.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CEFYBO-CONICET, Depto. Química Biológica, Facultad Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Las hormonas tiroideas (HT) modulan la actividad linfocitaria y juegan un rol en el desarrollo o crecimiento tumoral. En este último aspecto los resultados obtenidos son controvertidos. Previamente demostramos que el cultivo por 24 ó 72 hs en presencia de HT, estimula la actividad proliferativa de una línea de linfoma T, BW5147. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de tiroxina (T4) sobre el cultivo, a largo plazo (> 7 días), de células BW5147. A los 7 días de cultivo con T4 (10 µM) se encontró inhibición de la proliferación celular (por incorporación de [3H]-timidina) respecto a cultivos controles (C): T4: 12754 ± 1067* dpm vs C: 43428 ± 3542 dpm, p<0.01; y presencia de células con morfología nuclear apoptótica (por tinción con Hoechst) T4: 25±4% vs C: 3±1%. El número de células en apoptosis aumentó a partir de los 10 y hasta los 21 días de cultivo, donde también se observó fragmentación del ADN cromosomal mediante electroforesis en gel de agarosa (efecto "ladder"). Mediciones de actividad enzimática de óxido nítrico sintasa (NOS), por formación de [14C]-citrulina, mostraron un aumento respecto de los controles (en pmol/10((7)) cel, C: 98.5±8.7 vs T4: 234.2±20.6*, p<0.001). Se concluye que las HT ejercen un efecto dual sobre la actividad de células BW5147 dependiendo del

tiempo de acción. A largo plazo la T4 induciría efectos apoptóticos, mediados por una alta actividad de NOS, que estarían relacionados con un control del crecimiento celular.

- 418. (1108) EL COACTIVADOR TIF-2 INTERACCIONA CON LA MAPK P38 EN LA ACTIVACIÓN DE NF-KB.** NOJEK IGNACIO M, FRANCO Lorena, TONELLI Luciana, COLÓ Georgina, WERBAJH Santiago, COSTAS Mónica.

Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari. Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, Buenos Aires

En trabajos anteriores probamos que los coactivadores de receptores nucleares también son necesarios para NF-kB, aumentando su actividad transcripcional en forma dosis dependiente. Con el objeto de determinar si p38 MAPK, involucrada en la activación de NF-kB, interacciona con el coactivador TIF-2, analizamos 1) si hay interacción física entre TIF-2 y p38 mediante ensayos de coimmunoprecipitación, 2) dominios de TIF-2 involucrados en la actividad transcripcional de NF-kB transfectando HEK 293 con delecciones de TIF-2 y 3) efecto de un inhibidor específico para la actividad de p38 en la transactivación por delecciones de TIF-2, midiendo actividad reportera de NF-kB. Observamos que 1) existe interacción física entre TIF-2 y p38, 2) el dominio N terminal del coactivador y el dominio que interacciona con receptores nucleares y CBP muestran un aumento significativo de actividad de NF-kB (286 % ± 17; 586 % ± 27 respectivamente) y 3) sobreexpresando distintos dominios de TIF-2 en presencia del inhibidor de p38, la actividad NF-kB disminuye aproximadamente a la mitad (salvo el dominio C terminal). Esto sugiere que TIF-2 modularía la actividad de NF-kB a través de p38 entre otros, siendo esta interacción necesaria para regular su actividad transcripcional. Estas observaciones resultan de importancia para el diseño de fármacos con actividad bloqueante selectiva de factores de transcripción o receptores nucleares en aquellas patologías donde una hiper-activación estuviera involucrada.

- 419. (1111) EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE LA ENZIMA DIACILGLICEROL ACILTRANSFERASA (DGAT) SOBRE LA SÍNTESIS DE LÍPIDOS DE MEMBRANA Y SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR.** BAGNATO CAROLINA, GOMEZ DUMM Nelva, IGAL Ariel.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, INIBIOLP.

El diacilglicerol (DAG) es una molécula versátil que, además ser sustrato en la síntesis de novo de triacilgliceridos (TAG) y fosfolípidos, ejerce una potente acción mitogénica activando el sistema de PKC. Así, se estudió si la sobreexpresión de la enzima DGAT canalizaría el DAG destinado a fosfatidilcolina (PC) hacia TAG, lo que disminuiría la formación de nuevas membranas y, a su vez, la tasa de proliferación celular. Se transflectaron establemente células neoplásicas SV40 WI38, que exhiben una muy activa membranogénesis, con el cDNA de DGAT (células DGAT) o el vector de transfección vacío (células Control; C). Observamos que en las células DGAT el contenido de TAG aumentó ~5 veces respecto de los controles. Al analizar la tasa de síntesis de lípidos en las células DGAT, utilizando [14C]oleato, se evidenció una mayor producción de TAG (dpm x10((3))/mg prot; C=78.3±4.0 vs DGAT=138.0±3.7, p<0.01) en detrimento de la síntesis de PC (dpm x10((3))/mg prot; C=313.1±37.0 vs DGAT=251.1±0.8, p<0.01). Mas aún, se observó que las células DGAT sintetizaron ~40% menos de PC a partir de [14C]colina (dpm x10((3))/mg prot; C= 458.5±2.2 vs DGAT=284.9±2.3, p<0.01). Adicionalmente, la tasa de proliferación (144 hs) de las células DGAT estuvo significativamente reducida (celx10((6))/petri; C=10.5±0.2 vs DGAT=3.72±0.05, p<0.01). Se concluye que la sobreexpresión de DGAT en las células neoplásicas deriva el DAG destinado a la síntesis de nuevas membranas, lo que disminuye la proliferación celular.

- 420. (1139) LA GALECTINA-1 (GAL-1) INDUCE APOPTOSIS EN CÉLULAS DE LEYDIG "IN VITRO".** MARTINEZ VANESA, PELLIZZARI E², DIAZ ES³, CIGORRAGA S², LUSTIG L³,

DENDUCHIS B³, WOLFENSTEIN-TODEL C, IGLESIAS María Mercedes.

Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA ²CEDIE, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez ³ CONICET. CIR, Facultad de Medicina, UBA, Buenos Aires

La Gal-1, lectina con afinidad por β-galactósidos, interviene en procesos biológicos tales como regulación del crecimiento y adhesión celular, apoptosis y metástasis. Dado que Gal-1 interactúa con distintas glicoproteínas de la matriz extracelular (MEC), nuestro objetivo fue investigar el papel fisiológico de Gal-1 sobre células de Leydig (CL) de rata adulta cultivadas con o sin hCG durante 24 hs. Por estudios morfológicos se observó una inhibición en la formación de prolongaciones en las CL cultivadas con Gal-1 respecto de controles. La producción de testosterona (ng/10((6))células) se determinó en condiciones basales: sin Gal-1: 54,4 ± 3,4 vs. Gal-1: 28,1 ± 2,7; en presencia de hCG: sin Gal-1: 151,6 ± 12,9 vs. Gal-1: 51,9 ± 6,5 (X ± SE, *p < 0,001). La laminina (Ln) glicoproteína de MEC revirtió este efecto inhibitorio: en condiciones basales: Gal-1: 28,1 ± 2,7 vs. Gal-1+Ln: 45,5 ± 3,2; en presencia de hCG: Gal-1: 51,9 ± 6,5 vs. Gal-1+Ln: 126,24 ± 11,8 (X ± SE, *p < 0,001). Esta inhibición de la esteroidogénesis, se debió a la inducción de apoptosis causada por Gal-1, demostrada por las técnicas de anexina V/ ioduro de propidio (% apoptosis: sin Gal-1: 27,2 ± 3,2 vs. Gal-1: 67,7 ± 5,4 (X ± SE, *p < 0,01) y actividad de caspasa 3 (fluorescencia relativa: sin Gal-1: 6,8 ± 2,2 vs. Gal-1: 22,8 ± 3,6 (X ± SE, *p < 0,01). En conclusión, este efecto apoptótico de la Gal-1 sobre CL, induciría una inhibición de la liberación de testosterona que podría afectar a la espermatogénesis.

REPRODUCCIÓN III

- 421. (440) RELACION ENTRE ABUNDANCIA DEL ARNm DE CYP19(ARO), EXPRESION DE TGFB1 Y RELACION INDICE DE PROLIFERACION (IP) / INDICE APOPTOTICO (IA) EN TEJIDOS TESTICULARES HUMANOS PREPUBERES.** SARACO NORA ISABEL, SCIARA Mariela, BERENSZTEIN Esperanza, LENCINAS Virginia, RIVAROLA Marco Aurelio, BELGOROSKY Alicia.

Laboratorio de Investigación, Hospital de Pediatría Garrahan, Buenos Aires

La relación IP/IA es un parámetro de crecimiento tisular. Hemos descrito en humanos que durante el período neonatal se observa un aumento del peso testicular y que IP/IA en este período es mayor que durante el período prepubeal, en células de Sertoli(CS), germinales(CG) e intersticiales(CI), sugiriendo un rol crítico del período neonatal en la determinación de la masa testicular adulta. Se ha descrito en varios tejidos que el estradiol (E2) y el TGFβ1 serían reguladores de la apoptosis. El objetivo fue relacionar la abundancia del ARNm ARO con la expresión de TGFβ1 y con la relación IP/IA en testículos humanos prepúberes. El material clínico fue dividido en Gr1:1-22 días y Gr2:28 días-6 años de edad. Se analizó el ARNm de ARO (RT-PCR semicuantitativa), el TGFβ1 (inmunohistoquímica) e IP/IA (Ki67 y TUNEL respectivamente). La abundancia del ARNm ARO fue mayor en Gr1(n=6):4.63±2.81UA que en Gr2(n=14):2.13±2.04UA p<0.05. TGFβ1 se localizó solo en CI y el % de células positivas fue mayor en Gr1(n=10) 4.95±3.04 que en Gr2(n=20) 2.87±2.39, p<0.05. IP/IA en CS,CG y CI fue mayor en Gr1 que en Gr2, p<0.05. Se halló una correlación positiva ARO vs IP/IA en CS(r=0.45, p<0.05) y ARO vs TGFβ1 en CI(r = 0.57, p<0.01). Estos resultados sugieren que el TGFβ1 podría regular la expresión de ARO, y que ambos, podrían estar involucrados en la regulación de la masa testicular durante el período neonatal en el testículo humano.

- 422. (449) EFECTO DEL IGF-1 SOBRE LA APOPTOSIS Y LA DIFERENCIACION DE CELULAS TESTICULARES HUMANAS PREPUBERALES EN CULTIVO.** SCIARA MARIELA,

BERENSZTEIN Esperanza, SARACO Nora, LENCINAS Virginia, BELGOROSKY Alicia, RIVAROLA Marco.

Laboratorio de Investigación, Hospital de Pediatría Garrahan, Buenos Aires

El IGF-1 estimula la diferenciación de células de Leydig inmaduras de rata y tiene un efecto antiapoptótico en cultivo de células humanas. Se ha observado aumento de la Testosterona (T) bajo LH en células de Leydig de rata incubadas con IGF-1. Se ha detectado presencia de IGF-1 y de su receptor en testículo humano adulto. El objetivo fue evaluar el rol del IGF-1 en la apoptosis y en la esteroidogénesis en células testiculares humanas inmaduras en cultivo. Muestras de necropsia se dividieron en Gr1 neonatos (<1 mes) n=4, Gr2 lactantes (1-7 meses) n=4 y Gr3 prepuberales (1-6 años) n=7. Al día 2 de cultivo, se incubó con medio solo (Basal), con rhIGF-1 (50ng/ml) o LH (10ng/ml) por triplicado. Al día 6 de cultivo la apoptosis se estimó por TUNEL y la T se midió por RIA en el medio condicionado. El índice apoptótico (IA, % de células positivas) bajo IGF-1 no se modificó en Gr1, mientras que disminuyó en Gr2 y Gr3 p<0.05. El delta(D) de inhibición fue 52.2 ±16.5% respecto al IA Basal. La T bajo IGF-1 se incrementó en 1/4 cultivos del Gr1 (Basal: 14.9±4.82, IGF-1: 62.5±5.94 pmol/millón cel/día, p<0.05), en 4/4 cultivos del Gr2 con un D de incremento=270 ±106% y en 6/7 cultivos de Gr3 con un D de incremento=206±130%. Nuestros resultados sugieren que IGF-1 no tendría un efecto inhibitor de la apoptosis ni estimulador de la esteroidogénesis en Gr1 y que a partir del primer mes de vida y durante la prepubertad tendría un rol parácrino modulando el pool celular y la diferenciación testicular.

423. (468) EFECTO DE LA REACCION ACROSOMAL SOBRE LA ACTIVIDAD TOTAL DE LA HEXOSAMINIDASA DE ESPERMATOZOIDEOS DE HAMSTER. ZITTA KARINA, WERTHEIMER Eva, MIRANDA Patricia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET

La Hexosaminidasa (Hex) es la glicosidasa más activa en espermatozoides de mamífero. Hidroliza los residuos terminales N-acetilglucosamina y está involucrada en la fertilización. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la actividad de Hex de espermatozoides de hamster durante la capacitación y reacción acrosomal (RA). Los espermatozoides fueron purificados e incubados en medio TALP suplementado con 3 mg/ml de BSA para su capacitación. A diferentes tiempos, se tomaron alícuotas para determinar el grado de RA y la actividad total (At) de Hex (medio más espermatozoides) con un sustrato fluorométrico específico. La actividad total de Hex relativa (Ar) al tiempo cero fue: 0.87±0.05 y 0.28±0.03 a las 2.5 y 5 hs de capacitación, respectivamente. La disminución de la At a las 5 hs fue significativa (p<0.05) y concomitante con la ocurrencia de la RA espontánea (5±2, 6±2 y 86±10 % a las 0, 2.5 y 5 hs). La ruptura del acrosoma por congelamiento o inducción de RA con ionóforo de Calcio en espermatozoides no capacitados no modificó la At de Hex (Ar 1.3±0.1 y 1.04±0.09 respectivamente). En espermatozoides capacitados por 3 hs, el congelamiento tampoco disminuyó la At (Ar 0.90±0.07), mientras que el ionóforo si (Ar 0.5±0.1, p<0.04). Estos resultados sugieren la existencia de un mecanismo fisiológico de regulación de la actividad de Hex en espermatozoides de hamster y no estarían de acuerdo con la participación de esta actividad enzimática en la penetración de la zona pellúcida.

424. (498) REACCIÓN ACROSOMAL Y UNIÓN ESPERMATOZOIDE-ZONA PELLÚCIDA EN EL HAMSTER: INHIBICIÓN POR N-ACETILGLUCOSAMINA. WERTHEIMER EVA, ZITTA Karina, MIRANDA Patricia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET

La interacción espermatozoide-ovocito está mediada por las glicoproteínas de la zona pellúcida (ZP) y proteínas unidoras de carbohidratos del espermatozoide. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la participación de los azúcares en la reacción acrosomal (RA) y la interacción espermatozoide-ZP en el hamster. Los espermatozoides fueron incubados en medio TALP suplementado con 3 mg/ml de BSA para su capacitación. Los ovocitos, obtenidos por superovulación, fueron liberados del cúmulus con hialuronidasa y mantenidos en sal hasta su uso. Luego de 3 hs de capacitación, los espermatozoides fueron incubados en presencia de 1 mM de diferentes monosacáridos y la RA evaluada. La incubación de los espermatozoides con N-acetilglucosamina (GlcNAc) produjo una inhibición significativa de la RA espontánea (RA relativa al control: 0.35±0.04, p<0.0005), mientras que los demás monosacáridos probados (N-acetilgalactosamina, Glucosa, Galactosa, Manosa, D y L-Fucosa) no produjeron ningún efecto (RA relativa al control: 0.92±0.09, 1.05±0.07, 0.96±0.06, 1.07±0.03, 0.92±0.08 y 0.96±0.14 respectivamente). La GlcNAc inhibió la unión a la ZP (76±2 vs. 48±4 % de ovocitos con espermatozoides unidos, p<0.04; 2.4±0.5 vs. 0.8±0.1, espermatozoides por ovocito, p<0.01, control vs GlcNAc respectivamente), independientemente de la RA, ya que el efecto se repitió en ausencia de la misma. Estos resultados apoyan la participación de los residuos GlcNAc en la interacción espermatozoide-ZP en el hamster.

tado con 3 mg/ml de BSA para su capacitación. Los ovocitos, obtenidos por superovulación, fueron liberados del cúmulus con hialuronidasa y mantenidos en sal hasta su uso. Luego de 3 hs de capacitación, los espermatozoides fueron incubados en presencia de 1 mM de diferentes monosacáridos y la RA evaluada. La incubación de los espermatozoides con N-acetilglucosamina (GlcNAc) produjo una inhibición significativa de la RA espontánea (RA relativa al control: 0.35±0.04, p<0.0005), mientras que los demás monosacáridos probados (N-acetilgalactosamina, Glucosa, Galactosa, Manosa, D y L-Fucosa) no produjeron ningún efecto (RA relativa al control: 0.92±0.09, 1.05±0.07, 0.96±0.06, 1.07±0.03, 0.92±0.08 y 0.96±0.14 respectivamente). La GlcNAc inhibió la unión a la ZP (76±2 vs. 48±4 % de ovocitos con espermatozoides unidos, p<0.04; 2.4±0.5 vs. 0.8±0.1, espermatozoides por ovocito, p<0.01, control vs GlcNAc respectivamente), independientemente de la RA, ya que el efecto se repitió en ausencia de la misma. Estos resultados apoyan la participación de los residuos GlcNAc en la interacción espermatozoide-ZP en el hamster.

425. (499) RELACION ENTRE LA HEXOSAMINIDASA DE PLASMA SEMINAL HUMANO Y LOS PARAMETROS SEMINALES. MENÉNDEZ HELMAN RENATA, SANJURJO Claudia, MIRANDA Patricia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental CONICET, Fertilab, Buenos Aires

La Hexosaminidasa (Hex) es la glicosidasa más abundante en espermatozoides de mamíferos, así como en epidídimo y plasma seminal (PS). Estudios previos de nuestro laboratorio sugieren una relación con la maduración de los espermatozoides y su participación en la unión al ovocito. Para analizar la posible utilización de la Hex como marcador epididimario y/o su relación con la capacidad fertilizante, se determinó su actividad en PS y la correlación con los parámetros seminales. Alícuotas de PS de muestras de semen caracterizadas como: azoospermicas (Azo), astenoospermicas (Ast), teratoospermicas o normospermicas (Nor) según los parámetros de la OMS, fueron congeladas hasta su uso. La actividad enzimática se midió a través de la liberación de metilumbeliferona (MU) a partir de metilumbeliferil-N-acetilglucosamina. La actividad de Hex en el eyaculado resultó ser significativamente menor en el grupo Azo (233±33 vs 413±53 uM MU/min para Nor, p<0.02). La actividad de Hex/unidad de volumen correlacionó positivamente con el porcentaje de espermatozoides móviles en Ast (r=0.76, p<0.04) y negativamente con la cantidad de células redondas en Azo (r=-0.82, p<0.02). Esta relación entre la actividad de Hex y los parámetros relacionados con la patología en Azo y Ast y la correlación positiva con el número de espermatozoides en el total de las muestras analizadas (r=0.71, p<0.0001) sugieren una posible relación entre la actividad de Hex en PS y la capacidad fertilizante.

426. (739) LA DISMINUCION DE TESTOSTERONA (T) SERICA INDUCE APOPTOSIS EN TEJIDOS REPRODUCTIVOS DE RATONES MACHOS SENILES. JARA GONZÁLEZ MARCO ANTONIO, ESPONDA Pedro*, CARBALLADA Rosa*.

*Universidad de Antofagasta - Chile * Centro de Investigaciones Biológicas. CSIC - España*

La T tiene un papel en la supervivencia de las células de los órganos reproductivos del macho y su ausencia induce apoptosis en todos ellos. Nuestro objetivo fue estudiar si la disminución de T observada en animales seniles induce apoptosis en epidídimo (E), en los lóbulos ventral (PV), dorsal (PD), anterior (PA) de la próstata y en las vesículas seminales (VS). Se utilizaron ratones CD-1 jóvenes (J), seniles (S) y seniles inyectados con T (ST). Se determinaron los niveles de T por RIA y los tejidos se procesaron para identificación de células apoptóticas por morfología, TUNEL, caspasa 3 activa y electroforesis en geles de agarosa. Los niveles de T (ng/ml) fue de 2,08 ± 0,53 en J, de 0,52 ± 0,35 en S y de 2,82 ± 1,07 para ST. La apoptosis se detecta sólo en S y únicamente en E y PV, no detectándose en PD, PA y VS y tampoco en los órganos de J y de ST. Los índices apoptóticos se realizaron usando tres animales por grupo y contando un total de 10.000 cé-

lulas para cada órgano, los resultados fueron de $4,61 \pm 0,97$; $2,49 \pm 0,43$; $2,46 \pm 0,72$ para caput, corpus y cauda de E respectivamente y de $2,16 \pm 0,44$ en la PV de los animales S, siendo estadísticamente diferentes de los recuentos de órganos similares de los otros grupos en estudio ($p < 0,05$). En conclusión, la disminución de T en ratones machos S induce apoptosis en E y PV, la cual se previene con suplementos de T, sugiriendo que la supervivencia de las células de estos órganos son más dependientes de los niveles de andrógenos.

- 427. (811) DESCONDENSACIÓN NUCLEAR DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS: EL ÁCIDO HIALURÓNICO PRESENTE EN EL FLUIDO FOLICULAR COMO POSIBLE POTENCIADOR DE LA ACTIVIDAD DESCONDENSANTE DE LA HEPARINA.** BALDINI CONSUELO, ROMANATO Marina, CALVO Juan Carlos, CALVO Lucrecia.

Biología de la Reproducción, Instituto de Biología y Medicina Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

Los espermatozoides humanos se descondensan in vitro en presencia de heparina y glutatión (GSH). Resultados previos de nuestro laboratorio sugieren que el heparán sulfato, presente en el complejo cumulus-ovocito, podría ser el agente descondensante in vivo. El objetivo de este trabajo fue ensayar la capacidad descondensante in vitro del fluido folicular humano (hFF). Se utilizaron 22 hFFs, obtenidos de pacientes de FIV. Espermatozoides capacitados, procedentes de donantes normospermicos, se descondensaron en presencia de hFF 50% V/V con o sin GSH 10 mM, a 37°C, bajo atmósfera de 5% CO₂ en aire, durante 15, 30 y 60 min. Como control se incubaron espermatozoides en presencia de heparina 4.6 mM y GSH 10 mM. Previo fijación con glutaraldehído 2,5%, se determinó el porcentaje de descondensación total, %(M+G), al microscopio de contraste de fase. Ninguno de los hFF ensayados mostró actividad descondensante por sí sólo. Sin embargo el agregado de heparina 4,6 mM puso de manifiesto un efecto potenciador del fluido sobre la heparina en 50% de los fluidos: 20+2% vs 15+1% ($p=0,03$, Wilcoxon, $n=22$). Este efecto potenciador fue termoestable: 14+2% vs 13+1% post calentamiento a 100°C, 5 min. (NS, Student, $n=9$) y se pudo reproducir mediante el agregado de ácido hialurónico (HA): 20+2% vs 12+3% ($p=0,04$, Student-Newman-Keuls, $n=3$), pero no dermatán o condroitín sulfato. Proponemos que el HA actuaría in vivo potenciando la actividad descondensante del heparán sulfato, análogo de la heparina.

- 428. (824) PAPEL DE LA HEPARINA EN LA DESCONDENSACIÓN NUCLEAR DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS IN VITRO.** ROMANATO MARINA, BALDINI Consuelo, CALVO Juan Carlos, CALVO Lucrecia.

Biología de la Reproducción, Instituto de Biología y Medicina Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

El papel de la heparina (Hep) en la descondensación de espermatozoides humanos in vitro es motivo de controversia. Estudios previos de nuestro laboratorio demostraron que la actividad descondensante de la Hep in vitro se relaciona con su sulfatación. Objetivos: 1) Visualizar la interacción Hep - espermatozoide. 2) Comparar cinéticas de descondensación en espermatozoides enteros y núcleos aislados. Se utilizaron muestras de donantes normospermicos. 1) Espermatozoides capacitados se incubaron con Hep-FITC (30', 25°C) y se observaron al microscopio de fluorescencia. Aunque heterogénea, la marca se ubicó principalmente (75+8% espermatozoides) en la región post acrosomal y disminuyó (32+15%) significativamente (Student, $p=0,0289$, $n=6$) por incubación previa de espermatozoides con heparina 60X. 2) Espermatozoides lavados se incubaron en SDS 1%, sonicaron y centrifugaron en un colchón de sacarosa 60%. Células enteras y núcleos aislados se incubaron con Hep 46 mM y GSH 10 mM (37°C - 15, 30 y 60'). Se determinó la descondensación total al microscopio de contraste de fase. Los núcleos descondensaron más rápido (Paired Student, $p < 0,005$, $n=5$) que los espermatozoides: 46+9% vs 2+1% (15'); 94+5% vs

7+1% (30'); 100+0% vs 11+2% (60'). Hubo descondensación con Hep sola, pero significativamente menor (Student, $p=0,02$) que con Hep-GSH. Estos resultados indican que Hep puede actuar directamente sobre el núcleo y sugieren que existe un mecanismo de selección a nivel de la membrana plasmática.

- 429. (1004) EFECTO DE CALTRIN I DE RATON SOBRE LA REACCIÓN ACROSOMAL INDUCIDA POR PROGESTERONA.** AVENDAÑO CONRADO, FRANCHI Anahi, CORONEL Carlos.

Cátedra de Química Biológica, Facultad Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba Cátedras de Química Biológica, FCM y FCEFYn, Universidad Nacional de Córdoba.

La proteína caltrin I (calcium transport inhibitor) de vesícula seminal se une específicamente a la cabeza de los espermatozoides, sobre la región acrosomal, e inhibe la liberación y/o actividad de proteasas acrosomales aparentemente por inhibición de la reacción acrosomal (RA) espontánea (Biol.Reprod. 63: 42, 2000). A fin de estudiar este fenómeno, se utilizó el ensayo de cloruro de tetraciclina (CTC) para evaluar el estado funcional de espermatozoides sometidos a capacitación in vitro en medio Tyrode, en presencia y ausencia de caltrin. A los 90 min de incubación a 37 °C bajo atmósfera de CO₂ al 5 % en aire, se adicionó progesterona (P, 15 µM), inductor fisiológico de la RA y, luego de 15 min, se tomaron muestras y se trataron con CTC y paraformaldehído. Después de 12 h en oscuridad, se determinó el porcentaje de espermatozoides reaccionados por microscopía de fluorescencia según las indicaciones de Fraser (J.Reprod.Fertil. 96:363,1992). Se detectó 15.08±2.2 % de RA en los controles y la adición de P aumentó a 41.14±0.9 % la población de espermatozoides reaccionados. En presencia de caltrin, sólo se alcanzó 8.5±0.5 % de RA pero el agregado de P provocó un incremento a 49.7±1.5 %, significativamente superior al alcanzado en los controles. Los resultados indican que la actividad inhibitoria de caltrin sobre la captación de Ca⁽²⁺⁾ extracelular previene la excitosis prematura y garantiza la integridad acrosomal para la unión priMaría espermatozoide-zona pelúcida.

CARDIOLOGÍA III

- 430. (722) EFECTOS DEL EJERCICIO TEMPRANO Y TARDÍO SOBRE EL REMODELAMIENTO VENTRICULAR POST-INFARTO DE MIOCARDIO EN CONEJOS.** MONROY SILVINA, RODRIGUEZ Manuel, GONZALEZ Germán, ARAGON Martín, MORALES Celina, GELPI Ricardo.

Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Depto de Patología, Facultad de Medicina, UBA.

El efecto del ejercicio (ej) sobre el remodelamiento ventricular post-infarto (RV) es discutido. El objetivo fue evaluar, en un modelo de infarto (IM) en conejos, el efecto del ejercicio temprano (te; 18 días) y tardío (ta; 42 días) sobre el RV. Se realizaron 6 grupos (G): G1 (sham te; $n=11$); G2 (IM te; $n=6$); G3 (IM ej te; $n=9$); G4 (sham ta; $n=7$); G5 (IM ta; $n=7$); G6 (IM ej ta; $n=7$). Los animales de los Gte fueron sacrificados a los 56 días y los Gta a los 80 días. Se realizaron curvas presión-volumen sistólicas y diastólicas. El tamaño de IM% de los 6 G fue de 23.08 ± 0.79 ($X \pm \text{ESM}$). VDF: volumen diastólico a PDF=10; PD: presión desarrollada. $p < 0.05$ vs Sham* y G2¹.

	VDF (ml)	PD máx (mmHg)
G1	0.20±0.05	77.52±9.11
G2	0.40±0.06*	53.18±10.19
G3	0.77±0.12* ¹	28.51±5.02* ¹
G4	0.18±0.04	75.94±8.50
G5	0.40±0.8*	42.66±3.54*
G6	0.63±0.11*	45.87±6.60*

El ejercicio post-IM tuvo un efecto deletéreo sobre el RV. Dicho efecto fue mayor cuando el ejercicio se inició tempranamente.

- 431. (814) EL MONO RELOJERO VS. CICLOSPORINA A. LA CONTIENDA CRONOBIOLOGICA EN PACIENTES CON TRANSPLANTE RENAL.** KATZ MARCELO E., MARGULIS Fernando, SIMONETTA Sergio, GOLOMBEK Diego, SCHIAVELLI Ruben.

Laboratorio de Cronobiología - Universidad Nacional de Quilmes - Bernal, Bs. As. Unidad de Nefrología y Transplante Renal - Htal. Gral. de Agudos Dr. Cosme Argerich - Buenos Aires

Los pacientes medicados con ciclosporina A (CsA), inhibidor de calcineurina (CN), presentan trastornos de sueño y menor diferencia día/noche en los valores de tensión arterial (TA). En este trabajo analizamos los ritmos circadianos de TA en pacientes con transplante renal (ajustando los datos a una función cosenoidal de 24 hs) y en relación a la clasificación clínica de pacientes con nondippers (ND) y dippers (D) (diferencia día/noche de TA $< 0 > 10\%$). En 56 pacientes medicados con CsA sólo el 57,89% presentó un ritmo circadiano (el porcentaje descripto para una población sana es $> 90\%$). La acrofase (horario del pico de TA) de los pacientes ND fue nocturna, mientras que en los D diurna ($23,1 \pm 1,85$ vs $15,11 \pm 0,48$ hs.). Luego de 2 años desde el transplante y comienzo de la terapia con CsA, aumentó la proporción de pacientes con ritmo circadiano significativo ($58,33\%$ vs $71,43\%$) y cambió el horario de acrofase ($20,48 \pm 1,66$ vs $14,37 \pm 0,71$). Podemos inferir que en esta población de pacientes existen modificaciones en los ritmos circadianos, en correlación con el análisis que realizamos del ciclo sueño-vigilia. Aquellos clasificados clínicamente como dippers presentan una acrofase nocturna que se interpreta como un período más prolongado o un corrimiento de fase. Si bien analizamos pacientes con dos condiciones (transplante renal y CsA), estos resultados alientan la búsqueda de una mejor recuperación post-transplante, con la corrección horaria en la administración de CsA.

- 432. (1015) CONTRIBUCION DEL INTERCAMBIADOR NA+/CA2+ AL EFECTO INOTROPICO POSITIVO DEL FENOMENO DE LA ESCALERA.** PALOMEQUE JULIETA, VILA PETROFF Martin, MATTIAZZI Alicia.

Centro de Investigaciones Cardiovasculares, La Plata

El Na/Ca (NCX) extruye Ca de las células cardíacas (modo directo, MD), y también puede producir influjo de Ca (modo revertido, MR). Debido a que el aumento de la frecuencia de estimulación (AF) lleva a un aumento del Na⁺[i], el NCX fue involucrado en el efecto inotrópico positivo (EIP) del AF. Sin embargo, se desconoce cuál de los modos del NCX prevalece en el EIP del AF. En miocitos de gato, $1 \mu\text{M}$ de KBR-R7943, que bloquea al MR del NCX, no afectó al aumento de la contracción ni del transitorio de Ca (CaT) producido por un AF de 0.1 a 1 Hz. En presencia de rianodina y tpsigargina, la relajación ocurre principalmente a expensas de la extrusión de Ca vía el NCX. En estas condiciones, la reducción del flujo de Ca produciría un enlentecimiento del CaT y/o un aumento del Ca diastólico (Cad). El AF aumentó el Cad ($9 \pm 2\%$) pero aceleró la caída del CaT ($38 \pm 2\%$). Para un mismo inotropismo, $10 \mu\text{M}$ de ouabaina (OU), conocida por aumentar el Na⁺[i] y enlentecer al MD del NCX, produjo una prolongación del CaT ($25 \pm 9\%$) sin modificar los niveles de Cad. Los resultados descartan la participación del MR del NCX en el EIP del AF. El aumento del Cad indicaría la participación del MD del NCX; que este aumento no se acompañe de un enlentecimiento del CaT, como ocurre en presencia de OU, sugeriría que el MD del NCX contribuye al EIP debido a una falta de tiempo para remover el Ca acumulado (por disminución del intervalo diastólico) a altas frecuencias, más que a un enlentecimiento del mismo.

- 433. (1020) EFECTOS DEL DIAZÓXIDO SOBRE LA FUNCIONALIDAD DEL CORAZÓN DE RATA SOMETIDO A ISQUEMIA GLOBAL-REPERFUSIÓN EN DISTINTAS CONDICIONES ALIMENTICIAS.** MARINA PRENDES MARÍA G., RASTELLI Atilio, ASTUDILLA Christian, TESTONI Gustavo, SAVINO Enrique, VARELA Alicia.

Cát. de Fisiología, Fac. de Farm. y Bioq., UBA. Inst. de la

Química y el Metab. del Fármaco, CONICET.

Se investigaron los efectos del diazóxido (DZ), abridor de los canales de potasio ATP-sensibles (K-ATP), sobre la funcionalidad postisquémica del corazón perfundido Langendorff proveniente de ratas alimentadas (AL) (n=8) o ayunadas (AY) (n=8) sometido a isquemia global (I) (25 min)-reperfusión (RP) (30 min). Luego de 25 min de estabilización y 10 min antes de comenzar la I se agregó vehículo o DZ (concentración final $10 \mu\text{M}$) al medio de perfusión. La contractilidad se evaluó mediante la presión sistólica desarrollada (PD), las derivadas de la contracción y relajación ($\pm dP/dt$) y la presión diastólica final (PDF). La estadística se hizo con ANOVA de 3 factores. Confirmando resultados anteriores, el ayuno aceleró la recuperación postisquémica sin afectar la frecuencia de los latidos. (PD: 88 ± 9 vs $66 \pm 9\%$ $p < 0,01$, $+dP/dt$: 94 ± 16 vs $58 \pm 9\%$ $p < 0,01$, $-dP/dt$ 95 ± 8 vs $66 \pm 9\%$ $p < 0,01$ a los 20 min de RP, PDF: 17 ± 4 vs $49 \pm 11\%$ $p < 0,01$ a los 5 min de RP). El DZ (que no modificó los parámetros basales) mejoró la recuperación postisquémica especialmente en AL (AL: PD $94 \pm 7\%$ $p < 0,01$, $+dP/dt$ $92 \pm 8\%$ $p < 0,01$, $-dP/dt$ $97 \pm 10\%$ $p < 0,01$, AY: PD $109 \pm 10\%$ $p < 0,05$, a los 20 min de RP; PDF en AL: $14 \pm 5\%$ $p < 0,01$ a los 5 min de RP). Se concluye que la administración de DZ, durante la isquemia y la reperfusión, en dosis que no afecta los canales K-ATP del sarcolema pero sí los mitocondriales es beneficiosa, especialmente en corazones de ratas alimentadas, eliminando las diferencias entre ambos grupos nutricionales.

- 434. (1067) EFECTOS DEL PRECONDICIONAMIENTO HIPÓXICO(PC) Y FARMACOLÓGICO SOBRE LA FUNCIÓN CONTRÁCTIL DE BANDAS DE VENTRÍCULO DERECHO DE RATAS ALIMENTADAS(AL) Y AYUNADAS(A) SOMETIDAS A HIPOXIA(H)-REOXIGENACIÓN(R).** CERRUTI SILVANA, ROMAN Ernesto, VARELA Alicia, SAVINO Enrique.

Cát. de Fisiología, Fac. de Fcia. y Bioq., UBA, Inst. de la Qca. y Metab. del Fármaco, CONICET

El fin del estudio fue ahondar en los mecanismos del PC. Bandas de Krebs, glucosa 10mM , estimuladas a 1Hz , luego de 90m de equilibrio se sometieron a 30m de H (N_2 en vez de O_2) -60m de R. El PC fue un ciclo de 5m de H y 10m de R. La estadística se hizo con ANOVA de 3 factores, n:8. Las A(24h) mostraron mayor contractura en H ($73,9 \pm 2$ vs $56,1 \pm 8,3\%$ a los 30m, $p < 0,01$) y menor recuperación de la fuerza al R ($50,1 \pm 5,9$ vs $75,0 \pm 6,0\%$ a los 60m, $p < 0,01$) que las AL. El PC mejoró a las A que alcanzaron los niveles de las AL ($72,1 \pm 3,7$ vs $72,8 \pm 4,4\%$ la fuerza a los 60m de R y $19,0 \pm 5,4$ vs $19,1 \pm 6,5\%$ de contractura a los 30 m de H). La adenosina $100 \mu\text{M}$ presente durante 5m antes de H produjo gran mejoría en las A (contractura a los 30m $56,8 \pm 6,6\%$, $p < 0,01$ vs A control y fuerza a los 60m de R $82,2 \pm 3,7\%$, $p < 0,01$ vs A control). El antagonista A1 ciclopentil-dipropilxantina $5 \mu\text{M}$ anuló los efectos de adenosina y PC durante la H y la R. La fenilefrina $50 \mu\text{M}$ durante 5m antes de H fue eficaz sólo al final de R en A y la fentolamina $1 \mu\text{M}$ no afectó al PC. El nitroprusiato 1nM durante 5m antes de H mejoró a las A durante toda la R ($68,6 \pm 5,2\%$ $p < 0,01$ vs A control a los 60m) igual que el diazóxido $10 \mu\text{M}$ presente durante toda la H-R ($73,6 \pm 3,0\%$ $p < 0,01$ vs A control) y además atenuaron la contractura. El L-NAME $100 \mu\text{M}$ presente durante toda la H-R no afectó al PC. Los datos sugieren que el PC actuaría modificando el metabolismo de las A y que en estos efectos participarían disparadores como la adenosina y efectores como los canales de K-ATP sensibles.

ONCOLOGÍA IV

- 435. (684) DISMINUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA MITOCONDRIAL Y MODULACIÓN REDOX EN TUMORES MURINOS.** GALLI SOLEDAD, LABATO Mariana, CARRERAS María Cecilia, BAL DE KIER JOFFE Elisa, PODEROSO Juan Jose.

Laboratorio Metabolismo del Oxígeno, Hospital de Clínicas Instituto de Oncología "Ángel H. Roffo", Universidad de Buenos Aires

La progresión del ciclo celular es modulada por especies activas del oxígeno, como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y por óxido nítrico (NO). La concentración en el estado estacionario de H₂O₂ ([H₂O₂]ss) puede asociarse a proliferación (< 1 mM) o a arresto del ciclo celular y apoptosis (>1 mM). Más del 60% del H₂O₂ proviene de la mitocondria y depende de la utilización del NO sintetizado por la óxido nítrico sintasa mitocondrial (mtNOS). Los objetivos fueron: a) estudiar mtNOS en tumores murinos mamarios (M3 y MM3) y de pulmón (P07); b) analizar la producción de H₂O₂ dependiente de NO; c) correlacionar los datos con alteraciones mitocondriales tumorales. Las mitocondrias tumorales exhibieron alteraciones funcionales (disminución de la actividad de complejos I-II-III y IV) y ultraestructurales. Estas organelas expresan mtNOS, pero su actividad resultó marcadamente menor que en tejidos quiescentes como el hígado adulto normal (pmoles 3[H]Lcitrulina/ min. mg prot: Hígado: 39.1±2.3, P07: 4.9±1.5; M3: 2.3±0.7; MM3: 2.0±0.9). La producción de H₂O₂ mitocondrial con L-arginina, sustrato de la mtNOS fue igualmente menor en los tumores (nmoles H₂O₂/ min. mg prot: Hígado: 0.191±0.025; Pulmón: 0.033±0.006; P07: 0.004±0.001; M3: 0.028±0.002; MM3: 0.060±0.020). La disminución de [H₂O₂]ss que resulta de la pérdida de la actividad de mtNOS en mitocondrias tumorales podría traducirse en la persistencia de una señal de proliferación y la falta de activación de vías de arresto celular.

- 436. (733) INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL TUMOR MAMARIO MURINO C4HD POR INOCULACIÓN DE CELULAS TUMORALES TRATADAS CON OLIGODEOXINUCLEOTIDOS FOSFOROTIATOS ANTISENtido (AS[S]ODN) AL ARNm DEL IGF-IR.** SALATINO MARÍANA, SCHILLACI Roxana, PROIETTI Cecilia, CARNEVALE Romina, CHARREAU Eduardo, ELIZALDE Patricia V.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET, Buenos Aires

Mostramos previamente que el tratamiento in vivo del tumor mamario murino C4HD con AS[S]ODNs al ARNm del IGF-IR tiene un efecto inhibitorio del crecimiento tumoral mediado por MPA (acetato de medroxiprogesterona). En este caso quisimos probar si la inyección s.c. de células C4HD tratadas con AS[S]ODNs podían ejercer un efecto protector al posterior desafío con el tumor parental. Para ello se trataron células C4HD in vitro con 2µM del AS[S]ODN+MPA(10mM) ó con S[S]ODN+MPA (ODN sentido) ó sólo con MPA por 48 hs y se irradiaron. Los ratones se inocularon con 2x10⁶(6) células tratadas 6, 4 y 2 semanas antes del desafío. Un grupo adicional se inyectó con PBS estéril (n=6 en cada grupo). A los 21 días post-desafío se observó una disminución del volumen tumoral (medido con calibre) sólo en los ratones vacunados con las células tratadas con el AS[S]ODN. La inhibición fue del 53.4±6% con respecto al grupo PBS, del 65.5±8% con respecto al S[S]ODN y del 61.6±6% en comparación al inoculado con células tratadas con MPA. Mediante ensayos de hipersensibilidad retardada, citotoxicidad por liberación de ((51)Cr y proliferación de esplenocitos, comprobamos que la inoculación de células tratadas con el AS[S]ODN gatilla una respuesta inmune celular. En conclusión podemos decir que células C4HD tratadas in vitro con AS[S]ODN al ARNm del IGF-IR e inoculadas previamente al desafío tumoral, inducen una protección inmunológica de tipo celular que resulta en la inhibición del crecimiento tumoral.

- 437. (783) DETERMINACIÓN DE DIFERENTES VARIANTES DE MUCINA TIPO 1 (MUC1) EN EL CÁNCER DE MAMA.** CROCE MARÍA VIRGINIA, RABASSA Martín, SÁLICE Viviana, SEGAL-EIRAS Amada.

Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas, Facultad de Ciencias Médicas; UNLP

La mucina tipo 1 (MUC1) asociada al cáncer de mama presenta alteraciones en la glicosilación de su porción extramembranosa. Objetivos: Investigar la heterogeneidad de la MUC1 en el cáncer de mama. Materiales y métodos: 27 muestras tumorales de cáncer de mama. Mediante centrifugación se obtuvieron fracciones subcelulares las cuales fueron

ultracentrifugadas en gradientes de 6M guanidina-HCl/CsCl y analizadas mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras y no reductoras e inmunoblot. Se utilizaron tres anticuerpos monoclonales (MAbs): C595, SM3 y HMFG2 que reaccionan con epitopos previamente establecidos. Resultados: en todos los tumores se halló MUC1; con C595 se detectó MUC1 en 69/81 fracciones (85%); la reacción abarcó desde el punto de siembra hasta 200 kDa con bandas de 180 y 150-140 kDa; con SM3, el 91% de las fracciones fueron positivas, el 77% de las mismas reaccionaron en forma difusa (>200kDa a <25kDa), con bandas de 150-140 y 180 kDa. Con HMFG2 38/81 (47%) fracciones fueron positivas, siendo la banda más frecuente de 180kDa. En su mayoría las muestras tratadas en condiciones reductoras presentaron bandas de bajo peso molecular (<50 kDa). Se detectaron diferente número de reacciones positivas y un distinto patrón de reactividad con los tres MAbs anti-MUC1 en las fracciones obtenidas probablemente imputables a la presencia de diversas glicofomas de MUC1 en el cáncer de mama.

- 438. (809) RELACIÓN ENTRE DIFERENTES FACTORES DE RIESGO CON LOS ANTÍGENOS ASOCIADOS A MUCINA TIPO 1 (MUC1) EN CÁNCER DE MAMA.** CROCE MARÍA VIRGINIA, ISLARRAIN Marina, RUA Carina, DEMICHELIS Sandra, GORI Jorge, SEGAL-EIRAS Amada.

Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP Hospital Alemán, Buenos Aires

Objetivo: estudiar la relación entre factores de riesgo y la expresión de antígenos asociados a MUC1 en cáncer de mama. Materiales y métodos: tumores de 54 pacientes con cáncer de mama y 15 controles. Datos clínicos: edad, tipo histológico, estadio, tamaño tumoral, número de ganglios comprometidos, porcentaje de receptores de estrógenos (ER) y de progesterona (PR), número de embarazos, hijos y lactancia. Se empleó inmunohistoquímica utilizándose 3 anticuerpos monoclonales (MAbs): C595, HMFG2 y SM3 y 4 MAbs contra antígenos hidrocarbonados asociados a MUC1: sLewis x (KM93), Lewis y (C14), Lewis x (KM380) y Tn. Se realizó la estadística mediante el Análisis del Componente Principal (p<0.05). Resultados: Se halló reacción positiva y significativa entre el número de ganglios comprometidos vs ER (r=0.4254) y PR (r=0.4548); ER vs PR (r=0.700); lactancia vs Tn (r=0.4349), vs Lewis y (r=0.3645), vs s-Lewis x(r=0.3206) y vs Lewis x (r=0.4280) y entre el número de hijos vs antígenos hidrocarbonados. SM3 y HMFG2 correlacionaron positivamente entre sí (r=0.6111) y con C595; hubo correlación positiva entre SM3 vs ER (r=0.3294) y vs PR (r= 0.3111) y entre HMFG2 vs ER (r=0.3056) y PR (r=0.3214). Los antígenos peptídicos e hidrocarbonados se correlacionaron positiva y significativamente. Se observó correlación negativa entre edad vs tamaño tumoral, ER y PR. En el cáncer de mama, la expresión celular de MUC1 y antígenos asociados se encuentra relacionada con diversos factores de riesgo.

- 439. (838) AISLAMIENTO DE ALFA1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA (AGP) EN CARCINOMA COLORRECTAL.** CROCE MARÍA VIRGINIA, SÁLICE Viviana, SEGAL-EIRAS Amada.

Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP

La AGP sérica (45kDa) se halla aumentada en pacientes con cáncer sin haberse establecido si se debe al incremento de la síntesis hepática y/o de la producción tumoral. Objetivos: aislar AGP de tumores y suero de pacientes con carcinoma colorrectal relacionándolo con el origen de AGP sérica. Materiales: se estudiaron 35 pacientes con cáncer colorrectal y 15 controles. Métodos: se determinó la AGP en cortes de tejido mediante inmunohistoquímica (IHQ) empleando un anticuerpo policlonal anti-AGP y se midió la AGP sérica por inmunodifusión radial. Método de aislamiento de AGP: se precipitó AGP con sulfato de amonio y posterior inmunoprecipitación con un anticuerpo policlonal anti-AGP. El complejo inmune formado se aisló por cromatografía de afinidad en proteína A-Sepharosa CL-4B y elución con buffer pH ácido. Se analizaron las fracciones eluidas mediante SDS-PAGE e inmunoblot

con el mismo anticuerpo. Resultados: mediante IHQ, todos los tumores expresaron AGP citoplasmática y el 50% de los sueros de pacientes con cáncer presentaron elevada AGP sérica. En las fracciones tumorales se observó mediante inmunoblot, una reacción difusa con bandas de 100 y 45 kDa y en las séricas de pacientes con cáncer fueron de 100, 70 y 45 kDa. 1.- La metodología empleada fue útil para el aislamiento de AGP. 2.- La detección de distintas bandas de reacción podría deberse a más de una variante de AGP. 3.- La expresión y aislamiento de AGP de tumores los indicaría como posibles fuentes de AGP.

440. (854) PROGRESIÓN DE TUMORES HORMONO-DEPENDIENTES (HD) LUEGO DE UN PERÍODO DORMICIÓN. GATELLI ALBANA, CIRIO María cecilia, QUAGLINO Ana, MEISS Roberto, KORDON Edith.

ILEX-CONICET, Intituto de Investigaciones Hematológicas. Centro de estudios oncológicos. Academia Nacional de Medicina

Hemos demostrado que tumores HD inducidos por el virus del tumor mamario murino (MMTV) solo crecen en hembras preñadas. Para determinar el efecto que produce largos períodos de dormición en estas neoplasias, hembras inoculadas con 7 tumores HD distintos se mantuvieron vírgenes por al menos 4 meses. Estudios de incorporación de Br dU mostraron que poblaciones celulares (4,8% + 1,0; n=4) del tumor latente eran capaces de seguir proliferando. Luego del período de dormición, el crecimiento tumoral fue inducido por estímulo hormonal. Estos tumores mostraron un alto porcentaje de núcleos positivos para receptores de estrógenos y progesterona: 65,8%+3,5 y 65,5%+3,0, respectivamente. Sin embargo, los pasajes sucesivos de los mismos presentaban un comportamiento hormono-independientes (HI) y un menor nivel de estos receptores hormonales (9,5%+2,6 y 10,5%+2,6, respectivamente). Estos pasajes HI mostraron como característica histológica particular una mayor frecuencia de fenómenos de metaplasia escamosa de las células epiteliales cilíndricas de los adenocarcinomas (67% Vs. 30%). Esto sugiere un proceso de diferenciación divergente de las células tumorales. Los resultados aquí presentados indican que durante períodos de aparente dormición ocurren fenómenos activos que determinan la supervivencia de células tumorales con características particulares que están involucradas con el proceso de progresión tumoral.

441. (1027) COMPORTAMIENTO INVASIVO DE CELULAS RESISTENTES A VINCRISTINA Y A DOXORUBICINA OBTENIDAS DE UNA LEUCEMIA T-MURINA. GARCIA MARIANA, CALDAS LOPES Eloisi, LUZZI Renata, VANZULLI Silvia, AULICINO Paula, ALVAREZ Elida, HAJOS Silvia.

Facultad de Farmacia y Bioquímica- Catedra de Inmunología, UBA. Academia Nacional de Medicina- Departamento de Patología, Buenos Aires

Las líneas resistentes a multidrogas (MDR) originadas de la leucemia murina LB fueron seleccionadas in vitro con concentraciones crecientes de vincristina (VCR) o doxorubicina (DOX). Se analizaron los marcadores de superficie por citometría de flujo en ambas líneas resistentes (LBR-V160 y LBR-D160) y en la línea sensible (LBR-) mostrando similar expresión de CD25, CD24, CD8, CD4 y CD18 para todas las líneas. Cuando se estudió la molécula de adhesión CD44 y su unión al ácido hialurónico (AH) se encontró que todas las líneas presentaron elevada expresión de CD44; LBR- y LBR-D160 se unieron al AH luego de la activación con ésteres de forbol (PMA), a diferencia de LBR-V160 que no presentó unión al AH. Se realizaron curvas de supervivencia inoculando lotes de 5 ratones con las tres líneas celulares. Aquellos portadores de LBR- murieron a los 23 (\pm 2.11) días, mientras que los inoculados con LBR-V160 o LBR-D160 murieron a los 41 (\pm 9.53) y 41 (\pm 4.96) días, respectivamente. El análisis histopatológico demostró que LBR-V160 fue menos invasivo que LBR- y LBR-D160. El crecimiento in vitro, analizado mediante incorporación de sulforodamina-B, demostró que el tiempo de duplicación para las tres líneas fue de 10.24 h (LBR-), 16.75 h (LBR-V160) y 16.29 h (LBR-D160). Nue-

tros resultados sugieren que la unión de CD44 al AH podría ser de importancia para la capacidad de invasión y metástasis, ya que LBR-V160 que no une AH fue la línea menos invasiva.

442. (1043) ALTERACIONES MITOCONDRIALES MEDIADAS POR PSC 833 Y CICLOSPORINA A DURANTE LA APOPTOSIS EN LINEAS RESISTENTES A MULTIDROGAS. CALDAS LOPES ELOISI, GARCIA Mariana, BUSTAMANTE Juanita, LUZZI Renata, ALVAREZ Elida, HAJOS Silvia.

Facultad de Farmacia y Bioquímica- Cátedra de Inmunología- IDEHU Cátedra de Fisicoquímica, UBA.

Previamente demostramos que CsA y su análogo PSC 833 utilizados en baja concentración (0.1 μ g/ml) fueron capaces de revertir el fenotipo MDR, mientras que en alta concentración (1 μ g/ml) indujeron apoptosis independientemente de este fenotipo. CsA indujo apoptosis tanto en la línea sensible (LBR-), como en las resistentes a vincristina (LBR-V160) y doxorubicina (LBR-D160), mientras PSC 833 solo lo hizo en la línea LBR-V160. El objetivo de este trabajo fue evaluar el mecanismo involucrado en la apoptosis inducida por CsA y PSC 833. Analizamos las funciones mitocondriales a través de los cambios del potencial de su membrana y por liberación de citocromo c, seguido por activación de la cascada de caspasas. Utilizando las sondas JC-1 y DiOC6 encontramos que ambas drogas indujeron apoptosis asociada a la despolarización mitocondrial; posterior al tratamiento con CsA se observó un aumento del citocromo c citosólico de 2.61 para LBR-, 1.98 para LBR-V160 y 3.01 para LBR-D160 mientras que PSC 833 produjo un aumento de 1.15 para LBR-V160 (células tratadas vs. no tratadas, evidenciado por westernblot). En forma paralela por fluorimetría demostramos la activación de la caspasa 3, pero no de las caspasas 6 y 8. Estos resultados sugieren que los eventos mitocondriales cumplen un importante papel en el proceso apoptótico inducido tanto por CsA como por PSC 833 en las líneas en estudio.

MESA INTERDISCIPLINARIA

443. (442) BMP-4 SE SOBREEXPRESA EN PROLACTINOMAS HIPOFISARIOS Y PROMUEVE EL CRECIMIENTO TUMORAL A TRAVES DE UN MECANISMO QUE INVOLUCRA LA INTERACCION DE SMAD-4 Y EL RECEPTOR DE ESTROGENOS (ER). GIACOMINI DAMIANA, PAEZ-PEREDA Marcelo, REFOJO Damián, CARBIA NAGASHIMA Alberto, CHERVIN Alberto, GOLDBERG Victoria, ARZT Eduardo.

Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, FCEN, UBA, Hosp. St Lucia, Bs As, Arg.; Int Invest. Médicas, Fac. Med., UBA - CONICET.

Reportamos que BMP-4 se sobreexpresa en diferentes modelos animales de prolactinomas; induce la proliferación de la línea tumoral lactosomatotrofa GH3 y clones estables GH3 smad-4 (transductor de BMP-4) dominante negativo desarrollan tumores de menor tamaño que los controles en ratones nude. Analizamos molecularmente tumores Smad-4dn que crecieron en mayor medida y encontramos que: a) la expresión de Smad-4dn se perdió y b) estos tumores sobreexpresan c-Myc a diferencia de los tumores GH3 Smad-4dn. Concordantemente, la expresión de c-Myc estimulada por BMP-4 (200ng/ml) en tumores humanos (Western Blot) está aumentada en prolactinomas y no otros tumores hipofisarios. En tumores hipofisarios humanos (n=51), se observó una sobreexpresión de BMP-4 sólo en prolactinomas y tumores mixtos (prolactina y GH), y no en Cushing, acromegálicos, no funcionantes o hipofisis normales. Además, en células GH3 el cotratamiento BMP-4 (200ng/ml) y un bloqueante de estrógenos (E2) inhibe la estimulación de c-Myc y el cotratamiento con BMP-4 (10ng/ml) y E2 (1nM) posee un efecto aditivo del 35% ($p < 0.01$) sobre la proliferación (WST-1). Al bloquear cada estímulo con el antagonista contrario (BMP con ICI 1nM-100nM y E2 con Smad-4dn) se inhibe la proliferación celular significativamente ($p < 0.01$). Smad-4 interacciona físicamente con ER α /ER β (inmunoprecipitación). Demostramos la participación de BMP-4 en la tumorigenesis de

prolactinomas y la existencia de un crosstalk funcional entre BMP-4 y estrógenos.

- 444. (685) ALTERACION EN EL CAMBIO A ISOTIPO IGG EN EL CURSO DE UNA RESPUESTA T-DEPENDIENTE EN UN MODELO MURINO DE DEPRESION INDUCIDO POR ESTRES CRONICO. INFLUENCIA DE CATECOLAMINAS Y CORTICOSTERONA.** SILBERMAN DAFNE MAGALÍ, WALD Miriam Ruth, GENARO Ana María.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

Previamente, en un modelo murino de depresión por exposición a estrés crónico, observamos una disminuída respuesta proliferativa de linfocitos T. En el presente trabajo se analizó, en dicho modelo, la respuesta inmune humoral tras el desafío con glóbulos rojos de carnero (GRC) (T-dependiente) o LPS (T-independiente), evaluándose la participación de catecolaminas y corticosterona sobre la reactividad linfocitaria. Observamos que el título de anticuerpos IgM anti-LPS, determinados por ELISA, fue similar en ratones normales (N) y deprimidos (D) (log 1/dilución, $X \pm ES$, N: 2.16 ± 0.07 ; D: 2.31 ± 0.05 , n=8). Asimismo, la producción de IgM anti-GRC en D no difirió de la obtenida en N (N: 2.42 ± 0.08 , D: 2.57 ± 0.05 , n=8). Contrariamente, el título de IgG anti-GRC fue significativamente menor en animales D (N: 2.13 ± 0.05 ; D: 1.45 ± 0.06 , n=8). Estos resultados fueron confirmados en la respuesta inmune secundaria (N: 3.29 ± 0.05 ; D: 2.31 ± 0.08 , n=8). Los niveles de catecolaminas y de corticosterona no mostraron variaciones significativas. Sin embargo la sensibilidad al efecto inhibitorio de estas hormonas sobre la proliferación linfocitaria fue mayor en los animales D (%inhibición, adrenalina $10((-5))$ M, N=21±5, D=39±3; corticosterona ((10-5)) M, N=37±3; D=53±3, n=6). Se concluye que en la depresión existe una alteración en el cambio a isotipo IgG durante la respuesta humoral, paralela a una mayor sensibilidad de los linfocitos T al efecto inhibitorio de catecolaminas y corticosterona.

- 445. (823) ASPECTOS COGNITIVOS Y ELECTROENCEFALOGRÁFICOS DEL PÉPTIDO DE LIBERACIÓN DE TIROTROPINA, TRH.** SÁNCHEZ NEGRETE MARÍA G., DEUTSCH Susana, ANTELO Nora, FASSA Diego, YORIO Alberto, INTEBI Alberto D.

Facultad de Psicología, UBA. Servicio de Endocrinología, Servicio de Neurología, Hospital Fernández, Buenos Aires

El TRH es sintetizado en los núcleos paraventriculares hipotalámicos y actúa regulando el eje tiroideo. Ha sido demostrado su localización y la de sus receptores extra hipotalámicamente, relacionándose con procesos cognitivos. Además, alteraciones psicoafectivas y neurocognitivas han sido demostradas en patología tiroidea. Objetivo: evaluar aspectos neurocognitivos, actividad eléctrica cerebral (EEG) en 15 pacientes consultantes a un servicio de endocrinología, y los efectos moduladores del TRH (ev) sobre la cognición y EEG. Dada la influencia de fenómenos emocionales en la neurocognición, se evaluaron rasgos y estados psicoafectivos. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en todas las pruebas cognitivas por efecto del TRH en pacientes hipotiroideas (N=5) y eutiroideas. Las pacientes hipotiroideas tenían disminución significativa en su memoria verbal a largo plazo ($p < 0.05$) no encontrándose diferencias significativas en otras pruebas cognitivas. Además todas las pacientes hipotiroideas presentaban depresión y tenían una modalidad más ansiosa. El EEG mostró cambios significativos consistentes con los datos cognitivos. Se evidencia un rol modulador del TRH sobre la neurocognición y EEG, y también trastornos afectivos y cognitivos en hipotiroidismo. Se demuestra la importancia del abordaje interdisciplinario en el hipotiroidismo y se abre la posibilidad de utilizar terapéuticamente el TRH como estimulador sobre la cognición y actividad eléctrica cerebral.

- 446. (872) CAMBIOS FUNCIONALES E HISTOLOGICOS RETINIANOS INDUCIDOS POR LA INYECCION CRONICA INTRACAMERAL DE ACIDO HIALURONICO EN RATAS.** MINCES LUCIANA, CAMPA-NELLI Julieta, CROXATTO J. oscar, SANDE Pablo,

NAHUM Pablo, MORENO María cecilia, ROSENSTEIN Ruth, BENOZZI Jorge.

Dpto. de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, U.B.A. Fundación Oftalmológica Argentina (FOA), "Jorge Malbrán", Buenos Aires

En trabajos previos demostramos que la inyección crónica intracameral de ácido hialurónico (AH) induce una hipertensión ocular sostenida. El objetivo de este trabajo fue examinar la función y la histología retinianas en animales tratados con AH. Se inyectaron semanalmente con AH (1%) ratas Wistar macho en un ojo mientras que el ojo contralateral fue inyectado con vehículo. Se realizaron electroretinogramas (ERGs) en ambos ojos de cada animal a las 2, a las 6 y a las 10 semanas de tratamiento. Luego de 6 semanas se observó una disminución significativa de la amplitud de las ondas a y b del ERG escotópico sin cambios en las latencias (control = $21.0 \pm 1.5 \mu V$; AH = $16.8 \pm 1 \mu V$, control = $35.0 \pm 2 \mu V$; AH = $28.1 \pm 1.9 \mu V$ para las ondas a y b respectivamente, $p < 0.05$). Se observó una caída mayor en ambos parámetros a las 10 semanas de tratamiento (control = $20.0 \pm 1.5 \mu V$; AH = $14.6 \pm 1 \mu V$, control = $34.4 \pm 3 \mu V$; AH = $22.1 \pm 1.6 \mu V$ para las ondas a y b respectivamente, $p < 0.01$). En cuanto a la histología retiniana se observó una disminución en el número de células ganglionares y rarefacción axonal en la lamina cribosa de los animales tratados con AH durante 10 semanas. Los cambios inducidos por el tratamiento con AH son consistentes con algunas características del glaucoma humano. Por lo tanto, este modelo experimental podría constituir una poderosa herramienta para elucidar los mecanismos involucrados en el daño del nervio óptico y la retina provocados por la hipertensión ocular.

- 447. (981) PREDICCIÓN DE CRISIS EPILÉPTICAS UTILIZANDO UN ALGORITMO MATEMÁTICO DE ANÁLISIS DE LA SEÑAL QUE APLICA WAVELETS.** SILVA WALTER, GIGOLA Silvia, ORTIZ Francisco, D'ATELLIS Carlos, KOCHEN Silvia.

Centro de Epilepsia Hospital Ramos Mejía CONICET Instituto de Biología Celular y Neurociencias Prof. Dr. Eduardo De Robertis, UBA. Universidad Favaloro, Buenos Aires

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue intentar predecir la aparición de crisis epilépticas analizando la señal de EEG intracerebral en humanos utilizando wavelets. Métodos: Se utilizaron registros de señal de EEG intracraneal de pacientes con epilepsia parcial refractaria a los tratamientos farmacológicos candidatos a cirugía de la epilepsia que necesitaron registro de EEG intracraneal crónico en la evaluación prequirúrgica. Se analizó la señal basal sin actividad ictal y/o con escasa actividad interictal y aquella que aparecía antes de la crisis. La señal pre-ictal fue analizada en promedio 70 minutos antes del inicio ictal. El análisis de la señal fue realizado usando wavelets. Usando esta herramienta matemática, analizamos la energía de la señal en diferentes bandas de frecuencias. Resultados: El comienzo de las crisis fue claramente predecible en promedio una hora antes del inicio ictal. La señal de EEG que fue útil para predecir se encontraba en la propia zona epileptógena o muy cercana a la misma. Conclusiones: Mediante el análisis de la energía acumulada obtenido mediante el uso de wavelet en señal de EEG intracraneal podemos predecir la aparición de crisis epilépticas. Esta información potencialmente podría ser utilizada en la práctica clínica para decidir el momento de realización de intervenciones terapéuticas como la neuromodulación eléctrica.

- 448. (1170) CELULAS APOPTOTICAS VERSUS CELULAS NECROTICAS COMO FUENTE DE ANTIGENO PARA VACUNAS CON CELULAS DENDRITICAS.** GOLDSZMID SILVANA R., IDOYAGA Juliana, BRAVO Alicia, MORDOH José, WAINSTOK Rosa.

Dto. Química Biológica Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. Hospital Eva Perón, San Martín, Pcia Buenos Aires Fundación Instituto Leloir-IIB-BA, Bs As

Las células dendríticas (CD) son las principales activadoras de la respuesta inmune, pero la fuente de antígeno ideal se desconoce.

ce. Nuestro objetivo fue comparar la eficiencia en la respuesta inducida por CD cocultivadas con células apoptóticas (CDApo) vs CD cocultivadas con células necróticas (CDNec). La necrosis del melanoma B16F1 fue inducida por 4 ciclos congelación-descongelación (Nec) y la apoptosis (Apo) por irradiación (70Gy). Luego de 24h de cocultivo las CD fagocitaron tanto Apo como Nec (45%/40%) y alcanzaron niveles de maduración similares. Cuando se vacunaron ratones C57BL/6 semanalmente durante 4 semanas con 20000 CDApo o CDNec y se desafiaron en la semana 5 con 13000 B16, 77% de los ratones inyectados con CDApo permanecían libres de tumor 12 semanas post-desafío vs. 16% de los inyectados con CDNec ($p < 0,01$). Los grupos control recibieron CD, Apo, Nec o PBS y 0-16% de los ratones permaneció libre de tumor ($p < 0,01$). En el grupo CDApo se detectaron anticuerpos por ELISA, WB e IF. El análisis histológico del sitio de inyección a 0h, 48h, 6, 11, 18 y 45 días mostró en el grupo CDApo un infiltrado inicial de PMN que disminuye el día 11 y aumentan los linfocitos que rodean escasas células tumorales. En el día 45 no se observan células tumorales ni infiltrado. En ratones control hay escaso infiltrado inicial de PMN, al día 18 los nidos tumorales presentan bordes libres de infiltrado. Las células Apo son mejor fuente de antígeno para vacunas con CD e inducen respuesta humoral y celular efectivas.

MESA DE INVESTIGACIÓN CLINICA

449. (415) RECUPERACIÓN DE VIRUS DE HEPATITIS C (HCV) EN CULTIVOS DE CÉLULAS MONONUCLEARES PERIFÉRICAS (CMP) DE PACIENTES HEMOFÍLICOS COINFECTADOS HIV/HCV CON VIREMIA NEGATIVA PARA HCV. BARÉ PATRICIA, MASSUD Ivana, BELMONTE Liliana, CORTI Marcelo, DE TEZANOS PINTO Miguel, PÉREZ BIANCO Raúl, E. DE BRACCO María Marta, RUIBAL-ARES Beatriz.

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina Fundación de la Hemofilia, Buenos Aires

Investigamos la viremia para HCV en 37 plasmas de pacientes hemofílicos seropositivos para HCV y para el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) durante 4 años luego de iniciada la terapia antirretroviral de alta eficacia (HAART). Para la detección de genoma de HCV (RNA-HCV) utilizamos la reacción en cadena de la polimerasa, nested PCR, que amplifica la región 5' no codificante del virus. 6/37 pacientes presentaron viremias persistentemente negativas. La negativización de la viremia para HCV no se asoció con niveles de linfocitos T CD4+, CD8+, carga viral de HIV, edad del paciente, tipo de hemofilia ni severidad de la misma. Considerando que el virus de Hepatitis C puede mantener niveles de replicación muy bajos, se cultivaron las CMP de 5/6 pacientes sin viremia para HCV. Se recuperó RNA-HCV en todos los sobrenadantes a partir del día 7 y hasta el día 37 de cultivo. La disminución de carga viral de HIV y la reconstitución inmune no son argumento suficiente para explicar la viremia negativa de HCV de los 6 pacientes. Es necesario realizar trabajos de funcionalidad específica de las células T CD4+, CD8+ contra HCV. La recuperación de RNA-HCV en los cultivos sugiere que en pacientes co-infectados las CMP constituyen un importante reservorio que podría contribuir con la reaparición de HCV luego de largos períodos sin detección del mismo. Este trabajo constituye una prueba del papel fundamental que pueden tener las CMP en la persistencia de este virus en el individuo HIV+.

450. (732) ANALISIS BIOMECANICO ORIGINAL DE LA ESTRUCTURA ÓSEA Y DE LAS RELACIONES MUSCULO-HUESO EN 15 NIÑOS CON OSTEÓGENESIS IMPERFECTA (OI) MEDIANTE TOMOGRAFIA CUANTITATIVA PERIFÉRICA (PQCT). FERRETTI JOSE LUIS, ROLDAN Emilio, COINTRY Gustavo, TAU Cristina.

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico, Facultad de Ciencias Médicas, UNR, Hospital Pediátrico, Buenos Aires

Para describir biomecánicamente el compromiso musculoesquelético en forma no-invasiva, analizamos indicadores de calidad material (densidad mineral volumétrica, vDMO) y

morfométricos (área y momentos de inercia (MI) seccionales) del tejido cortical tibial, y las áreas musculares total y libre de grasa (AM, AMLG), obtenidos mediante pQCT de pantorrilla en 15 niños y niñas de 2-16 años, 5 de c/u de los tipos I, III y IV de OI, y en 33 controles etarios normales. El área y el MI corticales y el AMLG crecieron menos con la edad en OI que en controles, especialmente en tipos III/IV (ANCOVA, $p < 0,001$), y correlacionaron directamente con un score de movilidad (SM), e inversamente con la incidencia anual de fracturas (IAF; siempre $p < 0,05$). Los indicadores morfológicos y la vDMO (que fue menor en OI-III/IV que en OI-I; ANOVA, $p < 0,01$), correlacionaron con el AMLG ($p < 0,01$) en todos los OI, pero la vDMO no correlacionó con la IAF. Las pendientes de las correlaciones entre MMLG (y) y MM (x) decrecieron en el orden: controles > OI-I > OI-III/IV (ANCOVA, $p < 0,001$). Se describe en forma original el papel estimulante de la musculatura y la actividad física sobre la geometría ósea (modelación perióstica), la vDMO (inhibición de la remodelación haversiana) y la resistencia ósea (impacto combinado de los otros dos efectos, pero sólo aparente para el primero) en todos los OI, con mayor repercusión en los tipos III/IV, que habrían sido afectados adicionalmente por un defecto muscular intrínseco.

451. (837) EFECTOS DEL EJERCICIO ISOMETRICO SOBRE LA FUNCION DIASTOLICA EN PACIENTES CON ESTENOSIS AORTICA SEVERA. DONATO MARTIN, GABAY Jose, PASCUA Andres, SABAN Melina, SABARROS Javier, GELPI Ricardo, GRINFELD Liliana.

Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UBA. Servicio de Hemodinamia y Cardiología Intervencionista del Hospital Italiano de Buenos Aires

En pacientes con estenosis aortica (EA) e hipertrofia concentrica severa el efecto del ejercicio isometrico (EI) es controvertido. El objetivo fue determinar los efectos del EI sobre la funcion diastolica, en pacientes con EA sin (G1, n=6) y con lesion coronaria (G2, n=10). Pacientes sometidos a cateterismo cardiaco realizaron EI hasta que la frecuencia cardiaca (FC) aumento un 34 ± 5 %. Se evaluo la presion diastolica final (PDFVI), la $+dP/dt[[max]]$ y la constante de relajacion (tau). La FC post-ejercicio retorno al basal. $X \pm ES$. *: $p < 0,05$ vs basal

	Basal	Ejercicio	Post-ejercicio
$+dP/dt[[max]]$ (G1, mmHg/seg)	1989 \pm 190	2506 \pm 281*	2397 \pm 31
PDFVI (G1, mmHg)	29.8 \pm 2	39.9 \pm 1*	28.7 \pm 4
tau (G1, mseg)	35.4 \pm 8	51.1 \pm 12	46.4 \pm 7
$+dP/dt[[max]]$ (G2, mmHg/seg)	2428 \pm 220	2744 \pm 236	2390 \pm 226
PDFVI (G2, mmHg)	26.4 \pm 2	34.2 \pm 3*	30.9 \pm 2
tau (G2, mseg)	41.0 \pm 4	59.0 \pm 6*	53.9 \pm 6*

El EI enlentece la relajacion miocardica e incrementa la PDFVI en pacientes con EA y enfermedad coronaria. Post-ejercicio la relajacion y la PDFVI permanecieron alteradas en este grupo, sugiriendo la presencia de atontamiento miocardico.

452. (1051) REGULACION DE LA PRODUCCION DE IFN-G POR LA MOLECULA LINFOCITARIA ACTIVADORA DE SEÑALES (SLAM) EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS ACTIVA Y SU CORRELACION CON PARAMETROS CLINICOS DE LA ENFERMEDAD. PASQUINELLI VIRGINIA, MARTINEZ Gustavo, QUIROGA María, CASTRO ZORRILLA Liliana, MUSELLA Rosa, FAINBOIM Leonardo, GARCÍA Verónica.

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UBA Instituto de Inmunología Vaccarezza, Hospital Muñiz, Laboratorio de Inmunogenética Hospital Clínicas, Buenos Aires

La deficiencia de IFN-g es marcador de enfermedad severa en tuberculosis. SLAM (molécula linfocitaria activadora de señales),

estimulador de IFN-g, induce perfiles de citoquinas Th1 tras activación antigénica. Investigamos la función de SLAM como modulador de respuestas de citoquinas en tuberculosis. Los estudios celulares in vitro en la población analizada mostraron dos grupos de pacientes: un grupo con significativa respuesta proliferativa, producción de IFN-g ($p < 0.01$) y niveles de SLAM ($p < 0.05$) contra *Mycobacterium tuberculosis* (AR); y otro grupo con baja respuesta proliferativa, IFN-g y niveles de SLAM (BR). Clínicamente, los pacientes AR mostraron mayor porcentaje de linfocitos totales y respuesta a PPD y menor tiempo de evolución de enfermedad previa al diagnóstico ($p < 0.01$); mientras que los pacientes BR presentaron menor PPD, linfopenia y mayor tiempo de evolución de enfermedad. Los parámetros inmunológicos y clínicos se relacionaron significativamente ($p < 0.0001-0.05$) por análisis de regresión/correlación. La estimulación vía SLAM aumentó significativamente el IFN-g sólo en pacientes AR ($p < 0.01$), pero la estimulación antigénica más IFN-g o IL-12 previo a señalización vía SLAM, incrementó significativamente el IFN-g en pacientes BR ($p < 0.05$). Nuestros resultados señalan a SLAM como blanco potencial para modulación terapéutica en tuberculosis, y la posibilidad de correlacionar parámetros clínicos con inmunológicos para monitorear la evolución de la enfermedad.

INMUNOLOGÍA IX

453. (255) GALECTINA-3 ES UN REGULADOR CRÍTICO DE LA SOBREVIVENCIA Y DIFERENCIACIÓN DE LINFOCITOS B HACIA UN FENOTIPO DE MEMORIA: SIGNIFICADO FUNCIONAL DURANTE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *TRYPANOSOMA CRUZI*. ACOSTA RODRIGUEZ Eva, ZÚÑIGA Elina, MONTES Carolina, MOTRÁN Claudia, RABINOVICH* Gabriel, GRUPPI Adriana.

*Inmunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, * Laboratorio de Inmunogenética, Facultad de Medicina, UBA*

Previamente demostramos que IL-4 rescata a los linfocitos (Li) B de ratones infectados con *T. cruzi* de la apoptosis y bloquea su diferenciación a célula plasmática. Con el objeto de identificar mediadores que regulen la apoptosis y diferenciación de LiB inducida por IL-4, evaluamos en estos procesos el papel de Galectina-3 (Gal-3), una lectina de reconocida actividad antiapoptótica. Se evaluó por FACS y western blot la expresión de Gal-3 en LiB de ratones normales (BN) o infectados (BI) luego de cultivarlos con o sin IL-4 (25ng/ml). BI, pero no BN, expresan Gal-3 luego de 18h de cultivo sin estímulo (12%) y su expresión incrementa con IL-4 (37%) concomitantemente a la disminución de la apoptosis. BN expresan bajos niveles de Gal-3 cuando son estimuladas con anti-u (6%) o LPS (7%) coincidiendo el pico de expresión con el de proliferación. Las señales a través de IL-4R y CD40, que favorecen la diferenciación a LiB de memoria, incrementan en gran medida la expresión de Gal-3 en BN (25% y 16%) a tiempos tardíos (>72h). Además, BI estimuladas con IL-4 y BN estimuladas con LPS+IL-2 o LPS+IL-4 por 96h expresan Gal-3 principalmente en las células Syndecan- (no plasmáticas). Finalmente, al bloquear la expresión de Gal-3 con un oligonucleótido antisense se inhibieron los efectos sobre la diferenciación y apoptosis de LiB mediados por IL-4. Considerando nuestros resultados concluimos que Gal-3 está involucrada en las señales de supervivencia y diferenciación a LiB de memoria inducidas por IL-4

454. (258) EL PERFIL GENÉTICO ES UN FACTOR CLAVE EN EL DESTINO DE LA RESPUESTA INMUNE PATOGENICA A CRUZIPAÍNA, ANTÍGENO INMUNODOMINANTE DEL *TRYPANOSOMA CRUZI*. GUIÑAZÚ ALANIZ NATALIA, AOKI Pilar, GIORDANENGO Laura, PELLEGRINI Andrea, RIVAROLA Walter, CANO Roxana, GEA Susana.

Inmunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Dpto. de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, U.N.C. Fac. de Ciencias Médicas, U.N.C.

La susceptibilidad a la infección con *T. cruzi* está influenciada por el perfil genético murino. Previamente demostramos que la inmunización de ratones BALB/c con cruzipaína (Cz), un antígeno principal del parásito, genera una respuesta inmune específica y autorreactiva hacia miosina cardíaca (MC) asociada con daño tisular. El objetivo de este trabajo fue dilucidar la influencia del perfil genético murino en el desarrollo de la respuesta inmune patogénica inducida por Cz. Ratones C57BL/6 (perfil Th1) y BALB/c (perfil Th2) fueron inmunizados con 3 dosis i.d. de 10 ug de Cz (inmune) y 10 ug de OVA (control) más CFA. En la cepa C57BL/6, todos los isotipos de IgG anti-Cz fueron inducidos aunque no se detectó reactividad de anticuerpos hacia MC. Una fuerte respuesta proliferativa de esplenocitos inmunes se observó frente a Cz, pero no frente a MC. Tampoco se produjeron cambios en las poblaciones esplénicas CD19+, CD3+, Mac1+, Gr1+ y CD11c+ en C57BL/6. El estudio de citoquinas reveló incremento de IFN γ , TGF β y disminución de IL-4 respecto a la cepa BALB/c. Una disminución en la expresión del factor de transcripción GATA-3 por Western blot fue observada en esplenocitos inmunes de C57BL/6. No se detectó daño cardíaco. Postulamos que la cepa C57BL/6 es resistente a la autoinmunidad cardíaca por una regulación positiva de IFN γ y TGF β siendo esta última clave en la inhibición de GATA-3. Células CD4+ que expresan TGF β presentes en esta cepa estarían suprimiendo la respuesta autorreactiva

455. (819) USO DEL AG 163B6/CRUZIPAÍNA Y ODN-CPG PARA LA INMUNOPROTECCIÓN AL DESAFÍO LETAL CON TRIPOMASTIGOTES DE *T. CRUZI*. FRANK FERNANDA MARÍA, PETRAY Patricia, CAZORLA Silvia Inés, MUÑOZ Marina Cecilia, CORRAL Ricardo, MALCHIODI Emilio Luis.

Instituto de estudios de la inmunidad Humoral-CONICET-UBA Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires

Numerosas características del Ag 163B6/cruzipaína de *T. cruzi* indican que podría generar una respuesta inmune protectora contra la enfermedad de Chagas. Los oligodeoxinucleótidos (ODN) CpG promueven una respuesta de tipo Th1 que, dada la reproducción intracelular del parásito, sería la adecuada para conferir inmunoprotección. Estudiamos la capacidad del Ag y ODN-CpG para proteger contra dosis letales de tripomastigotes (*T.*). Se inmunizaron grupos (G) de ratones con 2 dosis de: I PBS, II Ag-Al(OH) $_3$ [[3]], III Ag-ODN-CpG, IV Ag-ODN-noCpG y V ODN-CpG. Los G-II y III mostraron altos títulos de anticuerpos, con promedios: G-II: IgG1= 9300, IgG2a <100; G-III: IgG1 < 100, IgG2a = 9400. Esplenocitos de G-III estimulados con el Ag presentaron un alto índice de proliferación y significativos incrementos en INF γ e IL2, comparados con el control. El día 45 los ratones fueron infectados con 500 *T.* Los picos más altos de parasitemia fueron: G-I y G-IV: 14 y 9x10 6 (6) p/ml respectivamente (7 dpi); G-II: 3x10 6 (6) p/ml (14 dpi) y G-III: 5x10 6 (5) p/ml (28 dpi). La mortalidad fue del 100% en G-I (7-9 dpi), G-II (14-16 dpi) y G-IV (9-12 dpi). El G-III sobrevivió al menos 30 días. El 60% del G-III negativizó la parasitemia y sobrevivieron hasta que fueron sacrificados 90 dpi. La inmunización con Ag163B6/cruzipaína y ODN-CpG induce una respuesta a LTh1, caracterizada por secreción de INF γ e IL2 y producción de Acs IgG2a, que es capaz de disminuir la parasitemia y proteger contra la infección aguda.

456. (929) MECANISMOS INMUNOLÓGICOS INVOLUCRADOS EN LA PROTECCIÓN CONFERIDA POR LA PROTEÍNA DE LA MEMBRANA EXTERNA DE BRUCELLA OMP31, POTENCIAL ANTÍGENO PARA LA VACUNACIÓN CONTRA LA BRUCELOSIS. CASSATARO JULIANA, ESTEIN Silvia, BRUNO Laura, DE LA BARRERA Silvia S., VELIKOVSKY Carlos A., SPITZ Moisés, BOWDEN Raúl A., FOSSATI Carlos A., GIAMBARTOLOMEI Guillermo H..

Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET/UBA). Lab. de Inmunogenética. Htal Clínicas. UBA. Fac. de Cs. Veterinarias. UNICEN. Acad. Nac. de Medicina

El objetivo de este trabajo fue estudiar los mecanismos inmunes desencadenados en el modelo murino por distintas estrate-

gias de inmunización con la proteína de membrana externa (OMP) 31 de *Brucella* e investigar cómo estos mecanismos participan en la defensa contra *Brucella*. Para ello inmunizamos ratones Balb/c con OMP31 recombinante (OMP31r), vacuna a ADN (pCIOMP31) y "prime/boost" heterólogo (pCIOMP31/OMP31r). Los niveles de IgG anti-OMP31 en el suero de los ratones inmunizados y la producción de IFN- γ , IL-10, IL-4 e IL-2 en esplenocitos estimulados in vitro con OMP31r, se determinaron por ELISA. La actividad citotóxica inducida en los esplenocitos de los animales se determinó midiendo la liberación de Cr51 de células A20 pulsadas con OMP31r. La inmunización con pCIOMP31 no generó una adecuada respuesta humoral ni Th1. La vacunación con OMP31r estimuló la producción de anticuerpos y la secreción de IFN- γ e IL-2, sin producción de IL-10 e IL-4. La inmunización mixta mejoró ambas respuestas (IgG y Th1). Todas las inmunizaciones indujeron citotoxicidad, que fue mediada por linfocitos T CD4+ y CD8+. Si bien los tres sistemas de inmunización generan respuestas inmunes diferentes, los tres fueron eficaces frente al desafío con *B. ovis* y *B. melitensis*, en ambos casos esta protección fue mejor para pCIOMP31/OMP31r. Estos resultados sugieren que diferentes mecanismos como los anticuerpos, la producción de IFN- γ y la citotoxicidad están implicados en la protección contra *Brucella*.

NEFROLOGÍA II

- 457. (282) ENFERMEDAD LINFOPROLIFERATIVA POSTRASPLANTE RENAL.** VETTORAZZI LORENA, MALDONADO Rafael, BORELLO Adriana, DILLER Ana, ALVARELLOS Teresita, DE BOCCARDO Graciela.

Hospital Privado de Córdoba

El Virus de Epstein Barr (VEB) es uno de los factores de riesgo más importantes involucrado en la patogénesis de desórdenes linfoproliferativos (PTLD) que ocurren después del trasplante (Tx) de órganos sólidos. Se planteó determinar incidencia, factores de riesgo y metodología diagnóstica. Para lo cual se valoraron 405 Tx renales en nuestra institución. Hubo 6 pacientes (P) con PTLD (5 donante vivos y 1 donante cadavérico), Edad 28.5 \pm 12 años, presentación 44.6 \pm 26 meses. Inmunosupresión (I): ciclosporina, azathioprina y prednisona y 2P con Micofenolato/FK506. El diagnóstico se realizó por histología, inmunohistoquímica con antiCD20, clonalidad de genes de Ig mediante PCR, e identificación del VEB 1-2 por nested PCR en plasma, células de sangre periférica (PBMC) y tejido (T). Se demostró: Linfoma monomórfico en 5P y Mieloma Múltiple Monomórfico kappa en 1P, AntiCD20 (+) en 4P, Monoclonalidad en 3P, policlonalidad en 2P y clonalidad mixta en 1P. Se evidenció VEB (+) en todos los P, en plasma, PBMC y T. Tratamiento: reducción de la I, aciclovir y 4P recibieron Rituximab. Dos de 6P murieron por PTLD. La incidencia de PTLD en nuestro grupo de estudio fue de 1.48% acorde a estadísticas. La metodología de diagnóstico utilizada fue la adecuada no pudiendo identificar población de riesgo. PTLD es una patología creciente que exige una alta sospecha clínica y el empleo de nuevas técnicas diagnósticas, como la determinación de carga viral para VEB, para el Dx precoz y seguimiento de PTLD.

- 458. (556) ROL DEL SISTEMA KALIKREÍNA KININA (SKK) EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL (PA). EFECTO DEL SUPLEMENTO DE POTASIO EN LA DIETA (K+) Y DE LA GONADECTOMIA PREPUBERAL (G).** ODDO ELISABET, DE LUCA SAROBE Verónica, KRMAR Rafael, HERRERA Horacio, SCERBO Adriana, TOLEDO Jorge, MARTÍN Rodolfo, IBARRA Fernando, ARRIZURIETA Elvira.

Instituto de Investigaciones Médicas A Lanari, UBA

G atenúa la hipertensión arterial que se desarrolla con la madurez en las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y K+ aumenta la kalikreína urinaria (KU) cuando se administra a hijos normotensos de padres hipertensos con KU disminuida. Se estudió el efecto de ambas estrategias, G y K+, sobre el desarrollo de

la PA en ratas SH en relación con el SKK. Ratas SH, hembras y machos y sus controles normotensos (Wistar Kyoto, WK), se estudiaron desde la 4 a 12 semanas de vida en condiciones basales, con y sin tratamiento de K+ al 1% en el agua de bebida y con G. En condiciones basales se registró un aumento progresivo de la PA (mmHg) en las ratas SH, entre las semanas 8 y 12 de vida, que fue mayor en machos (204.5 \pm 7.6 vs 164.5 \pm 4.8, p<0.01). Se observó un efecto hipotensor discreto por el aporte de K+ en las ratas SH de ambos sexos, que alcanzó a las 12 semanas de vida a 204.5 \pm 7.6 vs 173.5 \pm 5 y 164.5 \pm 4.8 vs 156.8 \pm 5.5 que fue acompañado de un leve aumento de la KU (nanokat/día) de 37.2 \pm 2.3 a 53.9 \pm 8.4 en machos. G indujo, en cambio una disminución significativa de la PA (204.5 \pm 7.6 vs 151.6 \pm 4.5 en machos y 156.7 \pm 7.3 vs 119.8 \pm 3.5, en hembras, p<0.001 en ambos casos) y un aumento simultáneo muy marcado de la KU (44.7 \pm 2.33 vs 91.4 \pm 5.7 y 29.4 \pm 1.9 vs 87.4 \pm 4.9 en hembras y machos respectivamente). Los resultados confirman la existencia de un dimorfismo sexual con respecto al desarrollo de la PA y sugieren una regulación de la misma por hormonas sexuales involucrando al SKK.

- 459. (574) FUNCION RENAL EN RATAS CON COLESTASIS EXTRA-HEPÁTICA DE CORTA DURACION.** BRANDONI ANABEL, QUAGLIA Nora, VILLAR Silvina, TORRES Adriana Mónica.

Farmacología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. CONICET.

Se han observado modificaciones en la farmacocinética de drogas eliminadas principalmente por vía renal en ratas con colestasis extrahepática de corta duración. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar parámetros hemodinámicos y tubulares renales en ratas Wistar macho adultas con ligadura de conducto biliar de 21 hs de duración (L, n=9). Se procesó además, un grupo de ratas Sham (S, n=5). Mediante técnicas convencionales de clearance se determinaron: velocidad de filtración glomerular (VFG, ml/min/100g p.c.), clearance renal de p-aminohipurato (ClrPAH, ml/min/100g p.c.), excreción fraccional de agua (EF%H₂O), sodio (EF%Na) y potasio (EF%K). Empleando microesferas fluorescentes se midió el flujo sanguíneo renal cortical y medular (FSRc y FSRm, ml/min/100g p.c.). Se calculó la fracción de filtración (FF). VFG: S=0.75 \pm 0.05, L=0.67 \pm 0.04; ClrPAH: S=4.14 \pm 0.38, L=3.38 \pm 0.48; EF%H₂O: S=0.67 \pm 0.06, L=1.29 \pm 0.22*. No se observaron modificaciones entre grupos en las EF%Na y en las EF%K. FSRc: S=6.75 \pm 0.57, L=3.56 \pm 0.54*, FSRm: S=0.53 \pm 0.12, L=1.58 \pm 0.24*, FF: S=0.20 \pm 0.02, L=0.34 \pm 0.02* (*P<0.05). Las ratas con colestasis extrahepática mostraron disminución en el FSRc, sin modificaciones en el ClrPAH. Es probable que el aumento anteriormente descrito en la abundancia del transportador renal de aniones orgánicos (OAT1) en estos animales compense la disminución esperada para el ClrPAH. Las variaciones en EF%H₂O se deberían, al menos en parte, al aumento en el FSRm.

- 460. (577) DEPURACION RENAL DE ANIONES ORGANICOS EN RATAS CON OBSTRUCCION URETERAL BILATERAL.** VILLAR SILVINA, BRANDONI Anabel, QUAGLIA Nora, TORRES Adriana Mónica.

Farmacología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. CONICET.

Los mecanismos fisiopatológicos asociados a la obstrucción ureteral bilateral (OUB) no han sido completamente elucidados. Dado que el riñón cumple una función muy importante en la eliminación de drogas, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la depuración renal de p-aminohipurato (PAH) y algunos de los parámetros que la determinan, en ratas Wistar macho adultas con OUB durante 24 hs (n=5). Se procesó un grupo paralelo de ratas Sham (S, n=6). Los estudios se realizaron 24 hs postdesobstrucción. Se determinaron: Clearance renal de PAH (ClPAH, ml/min/100g p.c.), Carga Excretada, Filtrada y Secretada de PAH (CEPAH, CFPAH, CSPAH, ug/min/100g p.c.) mediante técnicas convencionales de Clearance. Se evaluó, además, la actividad de la Na-K-ATPasa y la abundancia del Transportador

de Aniones Orgánicos (OAT1) en homogenatos de corteza renal. CI PAH: $S = 5.26 \pm 0.78$; OUB = $0.49 \pm 0.18^*$; CEPAH: $S = 164 \pm 15$, OUB = $92 \pm 12^*$; CFFAH: $S = 29 \pm 9$, OUB = 28 ± 3 ; CSPAH: $S = 147 \pm 13$, OUB = $64 \pm 13^*$; Na-K-ATPasa ($\mu\text{mol Pi/h/mg Prot.}$): $S = 16.81 \pm 1.59$; OUB = $11.92 \pm 0.69^*$; OAT1 (%): $S = 100 \pm 9$; OUB = $156 \pm 8^*$ (* $P < 0.05$). Los animales con OUB presentan una disminución en la depuración de PAH ocasionada, al menos en parte, por la disminución observada en la actividad de la Na-K-ATPasa cortical. El aumento en la abundancia de OAT1 no sería suficiente para compensar la deficiencia en otras variables que también afectan la secreción de PAH.

- 461. (834) ROL DEL INTERCAMBIADOR Na^+/H^+ EN LA REGULACIÓN DEL VOLUMEN CELULAR EN UNA LINEA CELULAR DE TUBULO COLECTOR CORTICAL DE RATA (RCCD1).** FORD PAULA, RIVAROLA Valeria, CHARA Osvaldo, KIERBEL Arlinet, PARISI Mario, CAPURRO Claudia.

Lab. Biomembranas, Dpto. Fisiología, Facultad Medicina, UBA.

Las células de los túbulos colectores del riñón de mamífero, están expuestas a un amplio rango de osmolaridad extracelular y requieren de importantes mecanismos de regulación del volumen celular. Estas respuestas adaptativas dependen de la actividad de diversas proteínas transportadoras relacionadas con la regulación del pH intracelular (pHi) y posiblemente del transporte de agua, pero su vinculación y los mecanismos implicados no han sido aún propuestos. El objetivo central de este trabajo fue evaluar el papel que juegan en éstos procesos las diferentes isoformas del intercambiador Na^+/H^+ (NHE) en una línea celular derivada de células del túbulo colector cortical de rata (RCCD1). Los estudios de Western-blott mostraron la presencia de las isoformas NHE1 y NHE2. El pHi se midió por espectrofluorometría en condiciones basales, luego de una carga ácida y en presencia de un gradiente osmótico. Concluimos que las dos isoformas se encuentran en la membrana basolateral pero tienen diferentes roles: NHE1 es responsable de la recuperación del pHi luego de una carga ácida, y NHE2 interviene en la regulación de pHi basal y estaría además involucrada en el proceso de regulación de volumen celular. Utilizando una técnica de microscopía de fluorescencia observamos que las células regulan su volumen en presencia de un gradiente hipertónico pero no hipotónico. El siguiente paso es evaluar el papel que jugarían los canales de agua (aquaporinas) en la regulación del volumen celular.

- 462. (952) REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE MONOAMINOXIDASA (MAO) RENAL POR ANGIOTENSINA (ANG).** DE LUCA SAROBE VERÓNICA, SCERBO Adriana, ARRIZURIETA Elvira E, IBARRA Fernando R.

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, UBA.

Ratas con dieta hiposódica muestran una excreción de Na^+ baja, presión sistólica normal (PAS), aldosterona elevada y una actividad de MAO renal aumentada, que se expresa por un cociente DOPAC/DA alto (SAIC 2001). En tejido nervioso, MAO es regulada por ANG. Objetivo: investigar la influencia de ANG, vía receptores AT1, sobre la actividad de MAO renal. Para ello, se estudió el efecto de Losartán (Los) (20 mg/kg/d en agua de bebida), inhibidor AT1, en ratas que consumieron dieta normosódica (NS) e hiposódica (BS) durante 5 días. Se evaluó diuresis, excreción urinaria (UxV) de Na^+ y K^+ , PAS y actividad de MAO en corteza y médula renal el día 5. Cuando consumieron dieta NS el agregado de Los provocó un aumento en la diuresis 8.97 ± 0.82 vs 14.1 ± 1.02 ml/d, $p < 0.01$; no se observaron cambios en la UxV de Na^+ y K^+ ; la PAS disminuyó de 107.9 ± 3.88 a 82.1 ± 5.92 mmHg, $p < 0.01$ y la actividad de MAO en corteza bajó de 8.8 ± 0.57 a 6.4 ± 0.68 nmol/mg.tej/h ($p < 0.05$) permaneciendo sin cambios en médula. Al recibir dieta BS el tto con Los aumentó la diuresis de 7.3 ± 0.61 a 10.3 ± 1.14 , $p < 0.05$, no hubo cambios en la natriuresis y la UK+xV disminuyó: 1 ± 0.07 vs 0.5 ± 0.11 , $p < 0.01$; la PAS bajó de 113.3 ± 3.69 a 62.3 ± 8.94 , $p < 0.01$; la actividad de MAO en corteza y médula disminuyó: 8.8 ± 0.57 vs 6.2 ± 0.46 y 4.6 ± 0.9 vs 1.8 ± 0.3 , ($p < 0.01$ res-

pectivamente). Conclusión: ANG, vía receptores AT1, regularía a la MAO renal estimulando su actividad tanto en condiciones basales como de ANG elevada (dieta hiposódica). Esta regulación en BS sería selectivamente mayor en médula renal

- 463. (1088) EXPRESIÓN DEL COTRANSPORTADOR 2CL- Na^+ - K^+ EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS.** BERTUCCIO CLAUDIA, DE LUCA Verónica, ODDO Elizabeth, IBARRA Fernando, ARRIZURIETA Elvira.

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari. Laboratorio de Riñón Experimental. UBA.

Estudios previos han mostrado la existencia de un dimorfismo sexual en la regulación de la presión arterial, siendo las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) machos más hipertensas que las hembras. Por tal motivo nos interesó estudiar el comportamiento del cotransportador 2Cl(-)- Na^+ (+)- K^+ (+), el cual podría participar en los mecanismos que regulan la presión arterial. Utilizamos homogenatos de médula externa renal de ratas Wistar Kyoto (WK) y ratas SHR, donde se midió la expresión del cotransportador 2Cl(-)- Na^+ (+)- K^+ (+) por Western blot. Para esto se utilizó un anticuerpo policlonal contra el carboxilo terminal del cotransportador 2Cl(-)- Na^+ (+)- K^+ (+) (rBSC-1). Cuando comparamos las WK hembras (15.03 ± 0.88 UD) o SHR hembras (17.23 ± 0.075 UD) con los respectivos machos (WK: 8.07 ± 0.96 UD, SHR: 11.46 ± 1.29 UD), se observó una mayor inmunoseñal del rBSC-1 en las ratas hembras ($p < 0.05$). En otro grupo de experimentos, las WK hembras (14.4 ± 0.67 UD) y machos (11.57 ± 0.07 UD) mostraron mayor señal al compararlos con SHR hembras (10.94 ± 0.40 UD) y SHR machos (6.96 ± 0.32 UD) ($p < 0.05$). Los resultados obtenidos muestran la existencia de un dimorfismo sexual en cuanto a la expresión del cotransportador en las distintas cepas estudiadas.

- 464. (1150) REGULACION POR ESTROGENOS DE LOS RECEPTORES DE ANGIOTENSINA II AT2 DEL RIÑÓN.** ARMANDO INES, JEZOVA Miroslava, JUORIO Augusto, IMBODEN Hans, SEMINOMORA Cristina, SAAVEDRA Juan.

Section on Pharmacology, National Institute of Mental Health, NIH Division of Neurobiology, University of Berne, Switzerland

Hay indicios que los receptores AT₂ de Angiotensina II actúan en balance con los AT₁, y que su estimulación podría ser beneficiosa. Encontramos que la expresión de receptores AT₂ en el riñón es mayor en ratones hembras que en machos. Esto nos sugirió que la expresión de los AT₂ podría ser dependiente de estrógenos. Estudiamos los AT₁ y AT₂, en ratones machos, hembras, ovariectomizadas, y ovariectomizadas tratadas con estrógenos, por inmunocitoquímica, autoradiografía, y RT-PCR. En todos los casos, el número de AT₁ es mayor que el de AT₂. Los AT₂ están presentes en glomérulos (G), rayos medulares (RM) y en médula interna (MI) y en hembras en la cápsula renal (CR). AT₁ y AT₂ co-localizan en G. Las hembras expresan menos AT₁ en G que los machos ($p < 0.05$). La ovariectomía disminuye los AT₁ en RM ($p < 0.05$), y los AT₂ en la CR ($p < 0.05$). Los estrógenos normalizan los AT₁ en RM y aumentan los AT₂, predominantemente en CR y MI, y también en G, RM, y franja interna de la médula externa ($p < 0.03$). En la médula de ovariectomizadas tratadas con estrógenos, encontramos aumento del mRNA para AT₂ ($p < 0.05$), disminución del contenido de cGMP ($p < 0.05$) y aumento del de PGE₂ ($p < 0.05$). En base a estos resultados, proponemos que el efecto protector de los estrógenos en el riñón puede ser parcialmente mediado a través del aumento en la expresión y en la estimulación de los receptores AT₂ en este órgano.

PROLIFERACIÓN Y GENÉTICA II

- 465. (639) CORRELACIÓN CLÍNICO-ETIOLÓGICA EN NIÑOS CON SÍNDROME DE PRADER WILLI: ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO.** TORRADO MARÍA DEL VALLE, CHERTKOFF Lilien,

BAIALARDO Edgardo, ARAOZ Verónica, ESTÉVEZ Elvira, KROCHIK Gabriela, OSUNA Blanca, CAINO Silvia, FANO Virginia, MAZZA Carmen.

Hospital de Pediatría "J.P. Garrahan". Servicios de Genética, Clínicas Interdisciplinarias, Nutrición y Crecimiento y Desarrollo, Buenos Aires

El Síndrome de Prader Willi (PW) produce hipotonía, retardo mental (RM) y obesidad. La incidencia es de 1/15000. La base genética es compleja: a) microdelección en cromosoma 15 de origen paterno b) disomía uniparental materna (DUP) c) mutaciones de imprinting (MI). Objetivos: investigar en población pediátrica con PW si existen diferencias fenotípicas según los diferentes mecanismos etiológicos. Métodos: Se estudiaron 58 niños con diagnóstico molecular de PW. Se efectuó detección de delección (FISH); DUP y MI (análisis de ligamiento); evaluación clínica (criterios del Consenso de PW); antropometría; cociente intelectual (CI), conducta adaptativa (CA); metabolismo de los H de C, glucosa e insulina. Resultados: La X de edad fue 4.72 años ($r=0.01$ a 17.25), el 58.6% fueron menor de 3 años; X de edad materna (EM) 30.46. Los pacientes se agruparon en: a) 41 niños con delección y b) 17 con DUP. Encontramos diferencia significativa en hipopigmentación ($p=29.4$), mayor defecto de articulación de la palabra ($p=0.021$), CI ($p=0.037$) y CA ($p=0.027$) en el grupo deleccionado. Este grupo presentó también mayor resistencia a la insulina sin diferencias en el grado de obesidad. La EM avanzada se asoció a DUP ($p=0.009$). Doce de los signos del Consenso resultaron edad dependientes (>3 años). La participación diferencial de genes de la región crítica según el mecanismo etiológico explicaría algunas de las variables fenotípicas y permitiría aplicar intervenciones terapéuticas precoces al grupo de mayor riesgo.

466. (740) EXPRESIÓN INDUCIDA DE P19INK4D ANTE LA INJURIA AL DNA Y SU INTERVENCIÓN EN LA IMPLEMENTACIÓN DEL ARRESTO EN G1 Y EL CONTROL DE LA APOPTOSIS NEURONAL. CERUTI JULIETA, VARONE Cecilia, SCASSA María, CÁNEPA Eduardo

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

El arresto en G1 es la respuesta inmediata ante el daño causado al DNA por algún agente externo o interno. En este trabajo estudiamos la participación de p19((INK4d)) en respuesta a la radiación UV en células de neuroblastoma humano SH-SY5Y. La distribución celular fue analizada por FACS y la proliferación por incorporación de 3H-timidina. Niveles de mRNA y proteínas fueron determinados por Northern e inmunoblots, respectivamente. El mRNA y la proteína p19 se expresan en G1 tardía y mitad de S. Las células irradiadas con luz UV 20 mJ/cm² presentan un arresto en G1 comparadas con el control sin irradiar (62% contra 44% a las 48 h), un aumento en la población subdiploide (13% vs 3,9%) y una expresión aumentada de mRNA y proteína p19 con un máximo a las 24 h. Ninguna de las otras INK4 varía su expresión. La sobreexpresión de p19, por transfección con lipofectamina, en células irradiadas con UV, eleva el arresto en G1 (70% a las 48 h) y disminuye a 5,5% la población subG1. Por el contrario, cuando los niveles endógenos de p19 fueron disminuidos por tratamiento con "antisense", desaparece el arresto en G1 (28% a las 48 h) y hay un importante aumento en la población subG1 (23%). El carácter apoptótico de la población subdiploide fue evidenciado por la fragmentación internucleosomal del DNA. Estos resultados sugieren un papel de p19((INK4d)), cuya expresión es inducida por UV, en la implementación del arresto en G1 y en la disminución de la apoptosis neuronal ante la injuria al DNA.

467. (943) INVESTIGACIÓN DEL POLIMORFISMO GENÉTICO DE LA TIOPURINA METILTRANSFERASA (TPMT) EN LA POBLACIÓN ARGENTINA. LARÓVERE LAURA E, DODELSON DE KREMER Raquel, LAMBOOY Lambert, DE ABREU Ronney.

Centro de Estudio de las Metabolopatías Congénitas, Fac. Cs. Médicas, UNCOr Laboratory of Pediatric and Neurology, University Medical Center St. Radboud, Nijmegen, Holanda

La TPMT cataliza la metilación de tiopurinas (6-mercaptopurina y azatioprina), fármacos de uso frecuente en leucemias, enfermedades autoinmunes y trasplantes de órganos. El polimorfismo genético de la TPMT se asocia a diferencias individuales, eficacia terapéutica o severa toxicidad hematopoyética, durante el tratamiento con tiopurinas. Estudios poblacionales mostraron variaciones étnicas del fenotipo bioquímico y genotipo de la TPMT. No conociéndose datos en Latinoamérica, se propuso estudiar el polimorfismo de la TPMT en la población argentina. Se estudiaron 150 individuos sanos (ambos sexos, 1-74 años de edad); la actividad enzimática (AE) se determinó en glóbulos rojos (GR) por HPLC; las mutaciones descriptas (TPMT*2, 3A, 3C, 4, 5, 6, 7, 8) fueron estudiadas por RFLP-PCR y ASA-PCR. El rango de AE de la TPMT (pmoles/10((7))GR/h) fue 3,9-18,6 (Media±DE= 9,56±2,96), considerando AE normal >7,1. El genotipo fue determinado en 43 sujetos; 28 de ellos con AE normal no presentaron las mutaciones estudiadas; 15 con AE intermedia, presentaron un alelo mutado (heterocigotas): *3A (n=9), *2 (n=4) y *4 (n=2). La prevalencia del polimorfismo de la TPMT en la población argentina, de etnicidad heterogénea, fue comparable con datos foráneos aunque con resultados disímiles en las mutaciones identificadas y sus frecuencias. Este trabajo contribuye a la aplicación de la farmacogenética como una estrategia preventiva de mayor seguridad y eficacia en el empleo terapéutico de las tiopurinas.

468. (994) RECEPTORES CON ACTIVIDAD DE TIROSINA QUINASA: UNA NUEVA POSIBILIDAD EN LA DIFERENCIACIÓN ADIPOCÍTICA. PAGANO ELEONORA, CALVO Juan Carlos.

Instituto de Biología y Medicina Experimental Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires

Estudiamos el rol del erbB-2, receptor de la familia del EGFR, en la diferenciación adipocítica de la línea normal murina 3T3-L1. Previamente, demostramos la expresión de erbB-2 y su modulación durante la adipogénesis de esta línea, inducida con dexametasona (DEXA) e isobutilmetilxantina (MIX) y luego de 48 hs. con insulina (INS). Extractos proteicos totales fueron sometidos a inmunoprecipitación y Western Blot para detectar erbB-1, -2, -3, -4, heregulina (HRG) y fosforilación en tirosina. Demostramos: a) la expresión de erbB-4, pero no de erbB-3, y un ligando específico, HRG, como precursor y molécula procesada; b) la capacidad del EGF de inducir la fosforilación en tirosina de los receptores erbB-1 y -2, acompañada de un aumento del PM (SDS-PAGE), y el correspondiente heterodímero, confirmando su activación en estas células que, en ausencia de suero, dependen de EGF para proliferar; c) el tratamiento con MIX/DEXA o INS en la fase proliferativa, y con MIX/DEXA durante la post-confluencia (o arresto) disminuye la expresión de erbB-1 y -2, sugiriendo que el efecto de estas drogas sería, al menos en parte, a través del control de estos receptores. Esta disminución en células diferenciadas, tanto inducida como espontáneamente, confirmaría la necesidad de apagar la señal mitogénica a favor de la diferenciación. Existen fuertes evidencias de la participación de los erbBs en la proliferación de la línea 3T3-L1 y que su modulación negativa sería necesaria para la diferenciación.

469. (1076) CRUZIPAÍNA, UN ANTÍGENO PRINCIPAL DEL TRYPANOSOMA CRUZI, ESTIMULA LA ENZIMA ARGINASA, LA PROLIFERACIÓN Y LA SOBREVIVENCIA DE CARDIOMIOCITOS. AOKI PILAR, GUIÑAZÚ Natalia, PELLEGRINI Andrea, MASIH Diana, GEA Susana

Facultad de Ciencias Químicas Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

La respuesta del tejido miocárdico a la presencia local del Trypanosoma cruzi, agente causal de la miocarditis chagásica; ha sido escasamente explorada. Teniendo en cuenta que cruzipaína (Cz), se encuentra en miocardio de pacientes chagásicos, el objetivo del presente trabajo fue dilucidar el efecto de esta glicoproteína en la sobrevivencia o muerte de cardiomiocitos (CM). Cultivos primarios de CM de ratones neonatos BALB/c fueron

estimulados con Cz, LPS/IFNg, IL4 ó mantenidos en medio como control. Al evaluar la respuesta proliferativa, se observó que todos los tratamientos estimularon la síntesis de ADN, incrementando la incorporación de timidina (control: 6200±784; Cz: 14130±1350; IL4: 12750±660; LPS/IFN: 29870±1200). Cz además, promovió la sobrevida de CM disminuyendo su muerte por apoptosis, evaluada por citometría de flujo y TUNEL. Al analizar las vías metabólicas de L-arginina, cuyos productos están involucrados en la proliferación y la muerte celular, se observó que Cz indujo la actividad de arginasa y la expresión de la isoforma II analizada por Western blot. Cz no estimuló la vía de la óxido nítrico sintetasa ya que no hubo cambios en los niveles de óxido nítrico respecto de los controles. Por el contrario, altos niveles de nitritos fueron detectados con el tratamiento con LPS/IFNg, conocido estimulante de esta vía. En conclusión, Cz actuaría como un factor de crecimiento de CM ya que estimula su proliferación e inhibe la muerte por apoptosis promoviendo la sobrevida.

- 470. (1153) IDENTIFICACION DE TRES COMPUESTOS HETEROCI-GOTAS EN EL GEN DE LA TIROGLOBULINA HUMANA ASOCIADOS A BOCIOS CON HIPOTIROIDISMO CONGENITO.** MOYA CHRISTIAN, GUTNISKY Viviana, DOMENE Sabina, CARON Philippe, MEDEIROS-NETO Geraldo, TARGOVNIK Héctor.

Cátedra de Genética y Biología Molecular; Facultad de Farmacia y Bioquímica; Universidad de Bs. As. CHU Rangueil, Toulouse, France - Laboratório de Tireóide, Universidade de São Paulo, Brasil.

Ciertas alteraciones hereditarias en la biosíntesis de hormonas tiroideas están vinculadas a bocio e hipotiroidismo congénito. Algunos defectos son debidos a mutaciones en el gen de la Tiroglobulina (TG) humana. El objetivo del trabajo es la identificación de nuevas mutaciones en pacientes afectados con dicha patología. Se diseñaron primers intrónicos para amplificar por PCR cada uno de los 48 exones de la TG. El análisis de la secuenciación permitió caracterizar los tres primeros compuestos heterocigotas en el gen de la TG humana: - Una delección de la citosina 1143 en el exón 9 que produce un corrimiento del marco de lectura y genera un codón Stop en la posición 382 combinada con una transición de la guanina 6725 a adenina (CGC->CAC) en el exón 38, que cambia la Arginina 2223 por Histidina. - Una transición de la citosina 886 a timina (CGA ->TGA) del exón 7 generando un codón Stop (posición 277) combinada con una transversión de guanina a citosina en la posición -1 del sitio aceptor de splicing del intrón 34. - La misma mutación descrita en el exón 7 combinada con una transición citosina a timina (CGA->TGA) en la base 4588 del exón 22; generando en ambos alelos un codón Stop (posiciones 277 y 1511). El desarrollo de esta metodología posibilita la identificación de nuevas mutaciones en el gen de la TG en familias afectadas e incrementar nuestro conocimiento en la fisiopatología molecular de esta enfermedad. CM, VG: ambos autores contribuyen por igual en el trabajo.

REPRODUCCIÓN IV

- 471. (636) RATONES TRANSGÉNICOS QUE EXPRESAN ELEVADOS NIVELES DE LA HORMONA GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) DESARROLLAN TUMORES DE OVARIO DE TIPO TERATOMA.** RULLI SUSANA, POUTANEN Matti, HUHTANIEMI Ilpo.

IBYME-CONICET, Buenos Aires; Dept. of Physiology, University of Turku, Turku, Finland.

Con el fin de analizar las consecuencias de la exposición crónica y elevada de hCG sobre la función ovárica, hemos generado ratones doble transgénicos (TG) que sobreexpresan en todas sus células las subunidades α y β de hCG. Se detectaron niveles farmacológicos de hCG circulante (6725±2568 UI/L, por bioensayo en células intersticiales de testículo de ratón), con valores de bioactividad 1000 veces superiores a los basales. Las hembras TG presentan pubertad precoz e infertilidad. A los seis meses de

edad se detectaron (por radioinmunoensayo) elevados niveles de progesterona (TG: 799±136, control (C): 12±2 nmol/L, $p < 0.01$), testosterona (TG: 1.1±0.4, C: 0.2±0.04 ng/ml, $p < 0.05$) y prolactina (TG: 4900±801, C: 57±14 ng/ml, $p < 0.01$). Exámenes histológicos (hematoxilina-eosina) del ovario a las 6-8 semanas de edad revelaron la formación desorganizada de diferentes tejidos, derivados de las tres capas embrionarias: epitelio respiratorio y gastrointestinal (endodermo), cartílago y músculo (mesodermo), túbulos neuroepiteliales, epitelio escamoso queratinizado, folículos pilosos y glándulas sebáceas (ectodermo); prominente vascularización y una incidencia del 100% a los seis meses de edad. Este modelo transgénico muestra por primera vez el rol potencial de hCG en la formación de tumores de ovario de tipo teratoma, donde ovocitos presentes en el ovario se activarían espontáneamente, comportándose como células pluripotentes con capacidad de dar origen a diferentes tipos celulares.

- 472. (884) LOCALIZACIÓN SUBCELULAR Y PARTICIPACIÓN EN LA INTERACCIÓN DE GAMETAS DE LA PROTEÍNA TESTICULAR TPX1 DE RATÓN.** BUSO DOLORES, DA ROS Vanina, MORGENFELD Mauro, *HAYASHI Masaru, PATRICIA Cuasnicu.

*Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME) *Hokkaido University, Sapporo, Japón.*

La proteína testicular TPX1 se encuentra presente en los espermatozoides de diferentes especies, existiendo en la actualidad controversia respecto de su localización y de su función. En el presente trabajo se estudió: 1) la localización de TPX1 en el espermatozoide, 2) su comportamiento durante la capacitación y reacción acrosomal (RA), y 3) su participación en la fertilización, usando como modelo al ratón. Experimentos de extracción de proteínas del espermatozoide indicaron una correlación ($r^2=0,95$) entre el % de espermatozoides sin acrosoma (evaluado por tinción con Coomassie Blue), y la proporción de TPX1 extraída (medida por Western blot y densitometría). Mientras que TPX1 fue liberada totalmente en un buffer con pH 11, capaz de disolver la matriz acrosomal, sólo una proporción de la proteína fue extraída con un medio que libera proteínas solubles del acrosoma. Luego de la capacitación in vitro e inducción de la RA con ionóforo, el contenido de TPX1 asociado a los espermatozoides fue de 82% y 36% respectivamente (determinado por Western blot y densitometría). Finalmente, la presencia de anti-TPX1 durante la co-incubación de gametas produjo una inhibición significativa del % de ovocitos con zona pelúcida fertilizados (13% vs ctrl 58%, $p < 0.05$). En conjunto, estos resultados indican que existe una proporción de TPX1 asociada fuertemente al acrosoma, que permanece luego de la RA, y que cumpliría un rol en la interacción con el ovocito.

- 473. (926) IDENTIFICACION Y PURIFICACION PARCIAL DE UNA PROTEINA DE OVIDUCTO CAPAZ DE UNIRSE A MEMBRANAS DE ESPERMATOZOIDES EN CERDO.** MARINI PATRICIA, CABADA Marcelo.

Area Biología-Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-Fac. de Cs. Bioqcas y Farm.-UNR

En muchos mamíferos la mayor parte de los espermatozoides que ingresan al oviducto se unen a células epiteliales ciliadas constituyendo un reservorio, y son liberados en un momento cercano a la ovulación. Las funciones posibles del reservorio de espermatozoides son: mantener la capacidad fecundante de los mismos, sincronizar su capacitación con la ovulación, y controlar su transporte previniendo la fecundación polispérmica. La base molecular de la interacción espermatozoide-célula oviductal aún no se ha establecido. Existen evidencias de que las lectinas asociadas a espermatozoides reconocen oligosacáridos presentes en las células epiteliales. Nos proponemos identificar moléculas de oviducto involucradas en la unión a espermatozoides. Utilizando membranas de espermatozoides provenientes de reacción acrosomal acopladas a un soporte hemos aislado una proteína proveniente de membrana plasmática de células epiteliales de oviducto de cerdo hembra. Esta proteína parcialmente purificada, muestra en cromatografía de filtración por geles una masa molecular mayor a 150 kDa y es capaz de ser teñida con PAS-

plata. Hemos identificado, y purificado y caracterizado parcialmente una glicoproteína de membrana de células epiteliales de oviducto de cerdo hembra capaz de unirse a membranas de espermatozoides homólogos. Esta glicoproteína probablemente ejerce una función en la unión espermatozoide-célula oviductal, base de la formación del reservorio de espermatozoides.

474. (932) EL EGF RETRASA EL INICIO DEL TRABAJO DE PARTO EN LA RATA. RIBEIRO MARÍA, FARINA Mariana, FRANCHI Ana.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET

Introducción. Las prostaglandinas (PGs), sintetizadas por la ciclooxigenasa (COX), desencadenan las contracciones uterinas en el parto. El óxido nítrico (NO) mantiene la quiescencia uterina durante la preñez. El Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) in vitro modula la síntesis de PGs y NO en varios sistemas biológicos y aumenta las contracciones uterinas en ratas inmaduras y adultas. **Objetivo.** Estudiar el efecto del EGF in vivo sobre el inicio del parto en la rata. **Materiales y métodos.** Hembras Wistar reciben EGF i/a (15-500 ng) o sc. salina (controles) en los días 18 a 22 de preñez. En un grupo se registra el inicio del parto. El resto de los animales se sacrifica en el día 22 de preñez. Se mide la síntesis de PGs (Radioconversión) y de NO (Bredt&Snyder) uterinas y la contractilidad. La expresión de COX se analiza por Western Blot. **Resultados.** 500 ng de EGF i/a en el día 21 de preñez retrasa 18 hs el inicio del parto; aumenta la síntesis de NO (3935±219 cpm/100mgph vs 3170±130); disminuye la expresión de la COX-II, la producción de 6 cetoPGF1a (1.7±0.2 %cpm en placa/100mg ph vs 3±0.3), PGF2a (1.3±0.2 vs 2.2±0.2) y PGE2 (3.3±0.4 vs 6.2±0.5) y la amplitud de las contracciones uterinas (IDT 354±24 vs 986±72). **Conclusión.** La administración de EGF in vivo al término de la preñez en la rata es capaz de retrasar el desencadenamiento del parto, hecho que se explica por el aumento del NO, la disminución de la contractilidad uterina, de la síntesis de PGS y de la expresión de COX-II.

475. (962) ROL DE LA ENDOTELINA-1 Y SU RECEPTOR ETA EN LA FUNCIÓN OVÁRICA. TOGNETTI TERESITA, ESTÉVEZ Alejandra, MOTTA Alicia.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYO)-CONICET

La endotelina 1 (ET-1) tiene un importante rol en la regulación de la funcionalidad del cuerpo lúteo (CL). En el presente trabajo se estudió el papel de la ET-1 sobre la síntesis de progesterona (P) y prostaglandina F2alfa (PGF2a) por el ovario y la regulación de su receptor. Para ello se utilizaron ovarios provenientes de ratas pseudopreñadas en estadio medio del desarrollo luteal (Em). Por medio de un EIA e inmunoblot respectivamente se observó que tanto la ET-1 como su receptor ETA aumentan desde Em hacia finales del desarrollo luteal. El agregado de ET-1 (10-7M) al medio inhibe la síntesis de P (control: 400±93 vs ET-1: 185±27 pg/mg tejido) mientras que estimula la producción de PGF2a por el ovario (control: 50±2.5 vs ET-1: 71±2.5 pg/mg tejido). Para ello la ET-1 se une al receptor ETA ya que la preincubación con su antagonista (BQ123: 10-6M) revirtió el efecto de la ET-1 (P: ET-1+BQ123: 308±65 pg/mg tejido y PGF2a: ET-1+BQ123: 55±2.8 pg/mg tejido). En un mecanismo de feedback positivo la PGF2a aumentó el nivel de ET-1 únicamente hacia finales del desarrollo luteal. Asimismo se evaluó por inmunoblot el efecto de la ET-1 sobre su propio receptor y se observó que el mismo disminuye la expresión del receptor ETA. Estos resultados demuestran una regulación entre la ET-1 y su receptor ETA que modularían tanto la P como la PGF2a permitiendo mantener la ciclicidad de la función ovárica

476. (966) FUNCIÓN Y REGULACIÓN DE LA LEPTINA EN LA PLACENTA HUMANA. CAMEO PAULA, BISCHOF Paul, CALVO Juan Carlos.

Instituto de Biología y Medicina Experimental Depto. Obstetricia y Ginecología, Htal. Universitario, Ginebra, Suiza Depto. Qca. Biológica, FCEyN

Introducción: La concentración de leptina, una proteína producida principalmente por adipocitos, se encuentra elevada en sue-

ro durante el embarazo. La placenta humana expresa leptina y su receptor. El objetivo de este trabajo fue estudiar el rol de esta proteína en la regulación de la actividad de las metaloproteasas (MMPs) y la regulación de la secreción de leptina por distintas hormonas y citoquinas producidas por la placenta. **Metodología:** Usando cultivos primarios de células de citotrofoblasto (CTB) de placentas normales a término (36- 42 semanas) y cultivos cortos de explantos se midió por zimografía el efecto de distintas concentraciones de leptina recombinante humana (rh- leptina) sobre la actividad de MMPs. También se evaluó el efecto de hCG, IL-6, pregnenolona y estradiol sobre la secreción de leptina por Western blot y ELISA. Las CTB y los explantos se cultivaron en duplicados en presencia o ausencia de distintos factores. **Resultados:** Rh-leptina (1ug/ml) estimula la actividad de la MMP-9 (p<0.042) sin tener efecto sobre la MMP-2. hCG (1 y 10mIU/ml), IL-6 (1000U/ml) y estradiol (1x10-9M) estimulan la expresión de leptina por la placenta; hCG (100mIU/ml) y pregnenolona no tienen efecto. Nuestros resultados apoyan la hipótesis que la leptina cumple una función reguladora importante en la fisiología de la unidad feto-placentaria.

477. (976) ESTUDIO DEL SITIO ACTIVO DE LA PROTEÍNA EPIDIDIMARIA "DE" INVOLUCRADA EN LA INTERACCIÓN CON EL OVOCITO. MORGENFELD MAURO MIGUEL, ELLERMAN Diego, BUSO Dolores, DA ROS Vanina, FERNÁNDEZ BELL-FANO Pablo, CUASNICÚ Patricia.

Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET

La proteína epididimaria de rata DE, miembro de la familia CRISP (proteínas ricas en cisteínas), participa en el proceso de fusión de gametas a través de sitios de unión en el ovocito. Recientes evidencias indican que la región responsable de la interacción con el ovocito estaría ubicada entre los aa 62-158. Con el fin de identificar con mayor precisión el sitio activo de DE, en el presente trabajo se expresaron dos fragmentos recombinantes acoplados a MBP (proteína unidora de maltosa), que cubren la región activa: F6, aa 62-116 y F7, aa118-160. La capacidad de unión de F6 y F7 al oolema se evaluó por inmunofluorescencia indirecta incubando ovocitos de rata sin zona pellucida con proteína DE recombinante entera (recDE), F6, F7, o MBP como control, y posterior incubación con anti-MBP como primer anticuerpo. Los resultados indicaron que mientras F7 fue capaz de unirse al oolema mostrando un patrón similar al obtenido con recDE, los ovocitos expuestos a F6 no mostraron marcación. El análisis de F7 indica que el mismo contiene dos motivos de función desconocida, altamente conservados en la familia CRISPs. La comparación de aa en los motivos de DE y de otras CRISPs indicó que mientras la proteína homóloga de ratón (AEG-1) presenta los mismos aa y es capaz de unirse al ovocito de rata, el homólogo humano (ARP) y la proteína helotermina, exhiben aa diferentes y no son capaces de unirse. Estos resultados apoyan la presencia del sitio activo de DE en la región F7 (aa 62-116).

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES III

478. (797) OXIDO NITRICO SINTASA MITOCONDRIAL Y ESTADO REDOX EN EL DESARROLLO HEPATICO EN LA RATA. CONVERSO DANIELA P., LEVISMÁN Damián, FINOCHIETTO Paola, PODEROSO Juan José, CARRERAS María C.

Laboratorio Metabolismo del Oxígeno Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires

El óxido nítrico (NO) producido por la NO sintasa mitocondrial (mtNOS) modula el consumo de oxígeno mitocondrial y la producción de especies reactivas del oxígeno. Considerando que el peróxido de hidrógeno (H2O2) participa en la regulación del ciclo celular, los objetivos de este estudio son: 1) evaluar la producción mitocondrial de NO y H2O2 en el desarrollo hepático en la rata y 2) evaluar las señales de transducción dependientes de H2O2 que regulan el ciclo celular. Se purificaron mitocondrias de hígado de ratas Wistar de ambos sexos en estadios proliferativos (días 17 y 19 embrionarios

y postnatal 2) y quiescentes (días 15, 30 y 90 postnatales). La actividad y expresión de mtNOS fue casi indetectable en el hígado fetal (E19 < 10% del adulto, P90: 31 ± 2 pmoles L-citrulina/min/mg prot) y aumentó a partir del nacimiento hasta alcanzar los valores del adulto a los 30 días de vida. La producción de H₂O₂ dependiente de NO (en presencia de L-arginina 100 μM) era igualmente indetectable en los hígados fetales y muy baja en los neonatos (0-7 y 16% respecto del adulto, P90: 0.13 nmoles H₂O₂/min/mg prot). Los homogenatos hepáticos de E19 presentaron alta expresión de ciclina D1 y baja expresión de la P38 MAPK fosforilada, mientras que los P90 presentaban un patrón opuesto. Los resultados obtenidos sugieren que la modulación de las concentraciones en estado estacionario de NO y H₂O₂ por la actividad de la mtNOS contribuyen a la regulación redox-dependiente del ciclo celular.

- 479. (925) EL FIBRINÓGENO RETRASA LA APOPTOSIS DE NEUTRÓFILOS HUMANOS A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN NF-KB.** RUBEL CAROLINA, GÓMEZ Sonia, FERNÁNDEZ Gabriela C., ISTURIZ Martín, CAAMAÑO Jorge, PALERMO Marina.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina Medical School, University of Birmingham, England

La regulación de la vida media de neutrófilos humanos (PMN) por miembros de la cascada de coagulación es crítica para la resolución de la respuesta inflamatoria. Nosotros demostramos anteriormente que el fibrinógeno soluble (sFbg) retrasa la apoptosis de PMN a través de un mecanismo dependiente de la integrina CD11b, la fosforilación de la Quinasa de Adhesión Focal (FAK) y la MAPKinasas ERK1/2. Como el factor de transcripción NFκB es un elemento clave en la regulación de la apoptosis en diversas células inmunes, nuestro objetivo fue evaluar si el NFκB participa en la modulación de la apoptosis de los PMN por el sFbg. Observamos que el sFbg induce la degradación de la proteína inhibitoria IκBα y la translocación del NFκB al núcleo por técnicas de Western Blot (WB) y ensayo de movilidad electroforética (EMSA). La inhibición farmacológica del NFκB revierte los efectos del sFbg sobre la apoptosis medida como activación de caspasa 3 por citometría de flujo (IMF ± SEM, n=5, control: 504 ± 13, sFbg: 182 ± 26*, Lactacystina + sFbg: 524 ± 38, MG132 + sFbg: 402 ± 35, Inhibidor de Calpaina I + sFbg: 434 ± 23 *p < 0.05 vs control). Estos resultados fueron reproducidos en la línea mieloide HL-60 diferenciada con DMSO, que induce la expresión del CD11b. Además, la inhibición de la ERK1/2 reduce significativamente la activación del NF-κB, medida por WB y EMSA. Concluimos que el sFbg activa NFκB integrando la cascada de señalización CD11b-FAK-ERK-NFκB que interviene en la prevención de la apoptosis por el sFbg.

- 480. (964) LOS CAMBIOS EN EL CITOESQUELETO, COMPLEJOS DE ADHESIÓN FOCAL Y CAPACIDAD MIGRATORIA INDUCIDOS POR ONCOGENES EN FIBROBLASTOS NIH3T3 DEPENDE DE LA ACTIVIDAD DE LA GTPASA RALA.** ADAM ALEJANDRO, KRASNAPOLSKI Martín, PURICELLI Lydia, AGUIRRE-GHISO Julio, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa

Area Investigación. Instituto de Oncología "A. H. Roffo" Mount Sinai School of Medicine, New York University, New York, USA.

La sobreexpresión de oncogenes en NIH3T3 induce profundos cambios morfológicos y migratorios. En este trabajo, estudiamos el rol de RalA en los cambios en la estructura del citoesqueleto, los complejos de adhesión focal (FACs) y motilidad de las células NIH3T3 inducidos por los oncogenes v-Ras, v-Raf ó v-Src, mediante la coexpresión de la dominante negativa de RalA S-28N-RalA. Observamos que NIH3T3 transformadas por estos oncogenes pierden la inhibición por contacto, que se revierte por la coexpresión de S28N-RalA. Ensayos de fluorescencia demuestran que los oncogenes inducen la pérdida de las fibras de stress de actina (SFs) y la desorganización de los FACs (según localización de vinculina e integrina β1), induciendo estructuras de actina cortical, en >95% de las células. La coexpresión de S28N-RalA restaura las SFs y los FACs (<5% de células sin SF ó FACs). La conformación del citoesqueleto de tubulina no se modula en ninguna de estas líneas.

Según ensayos de herida en monocapa, los oncogenes incrementan la migración celular, promoviendo un 100% de cobertura a las 12 hs. Este aumento de la migración es parcialmente inhibido por la coexpresión de S28N-RalA (~50% de cobertura, p < 0,0001). En conclusión, la actividad de RalA sería necesaria para los cambios en la estructura del citoesqueleto de actina y la organización de los complejos de adhesión focal, así como para el aumento en la capacidad migratoria, inducidos por los oncogenes v-Ras, v-Raf ó v-Src en fibroblastos NIH3T3.

- 481. (987) REGULACIÓN DE LOS NIVELES DE ARN MENSAJERO DE UNA ACIL-COA TIOESTERASA DE CADENA LARGA EN TEJIDO CARDÍACO POR ISOPROTERENOL.** NEUMAN ISABEL, MALOBERTI Paula, COLONNA Cecilia, CASTILLA LOZANO Rocío, PERALTA Jorge, PODEROSO Juan, PODESTÁ Ernesto.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

En trabajos previos demostramos que isoproterenol (Iso) regula la actividad de ARTISt (Arachidonic acid-Related Thioesterase Involved in Steroidogenesis) en tejido cardíaco. Esta enzima pertenece a una nueva familia de acil-CoA tioesterasas. ARTISt fue previamente identificada como intermediaria obligatoria en la liberación de ácido araquidónico para la síntesis de esteroides en tejidos esteroideogénicos y su gen ha sido catalogado como perteneciente a los de respuesta temprana. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la participación de un mecanismo β-adrenérgico en la regulación del gen de ARTISt en tejido cardíaco. La perfusión cardíaca con Iso (10 ((-7))M) aumentó la abundancia del transcrito (1,4; 1,6 y 2,6 veces a los 15, 30 y 60 minutos respectivamente) -evaluado por Northern blot- mientras que no se encontraron cambios en la expresión de la proteína. El incremento observado se repitió con la perfusión de un análogo permeable del AMPc (8-Br AMPc 10 ((-4))M) (1,8 veces a los 15 minutos). El efecto estimulador de Iso fue bloqueado por la perfusión previa con el antagonista β-adrenérgico propranolol (10 ((-5)) M). Los niveles del transcrito y la actividad de ARTISt disminuyeron cuando las ratas fueron inyectadas con actinomicina D (500 μg/kg) previo a la estimulación con Iso. Estos resultados demuestran que los agonistas β-adrenérgicos son capaces de regular la expresión de un gen que participa en el control de los niveles intracelulares de ácido araquidónico.

- 482. (1058) DOPAMINA ACTIVA LA ISOFORMA ZETA DE LA PROTEÍNA QUINASA C (PKC) Y PROMUEVE SU ASOCIACIÓN CON LAS VESÍCULAS DE CLATRINA EN CÉLULAS EPITELIALES RENALES.** MENDEZ CARLOS, BERTORELLO Alejandro, PODESTA Ernesto.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires Department of Molecular Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Suecia.

La inhibición de la actividad de la Na(+),K(++)-ATPasa (NKA) por dopamina (DA) en células de túbulo proximal renal (PCT) se asocia con un incremento en la endocitosis de la NKA, por un mecanismo regulado por la PKC. Recientemente se ha postulado la participación de una de las isoformas atípicas de PKC en la vía de transducción de señales de DA en función del efecto inhibitorio de los metabolitos hidroxilados del ácido araquidónico sobre la actividad de NKA. El objetivo del presente trabajo ha sido determinar si DA activa la isoforma zeta de PKC y estudiar la localización subcelular de PKC en células OK. La localización de PKC zeta se estudió por medio de microscopía confocal por barrido de láser utilizando una forma fluorescente de la enzima obtenida por fusión con la proteína fluorescente verde (GFP). La incubación con DA (1 μM) de cultivos de células OK produjo cambios en el patrón de distribución de PKC zeta-GFP a los 15 seg. en pequeñas áreas de la membrana plasmática y de la región perinuclear. El análisis inmunocitoquímico por microscopía confocal de células OK tratadas con DA demostró la colocalización de PKC zeta con clatrina, un efecto corroborado por Western blot de fracciones subcelulares enriquecidas en clatrina. Nuestros resultados indican que la isoforma zeta de la PKC está involucrada en el efecto inhibitorio de la DA sobre la NKA en PCT. En estas

células, PKC zeta se activa y se transloca a las vesículas de clatrina en respuesta a la estimulación por DA.

- 483. (1061) ARAQUIDONOIL-COA SINTETASA: UNA ENZIMA LIMITANTE EN LA EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA STAR Y EN LA ESTEROIDOGÉNESIS.** CANO FLORENCIA, PODEROSO Cecilia, MALOBERTI Paula, CASTILLA LOZANO Rocio, MELE Pablo, COLONNA Cecilia, MENDEZ Carlos, PAZ Cristina, PODESTÁ Ernesto.

Cátedra de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Recientemente se ha descrito la presencia en tejidos esteroideogénicos de una acil-CoA sintetasa (ACS4) que utiliza preferentemente ácido araquidónico (AA) como sustrato. Hemos demostrado que es necesaria la acción conjunta de ACS4 y una araquidonil-CoA tiosulfotransferasa (ART1St) para generar AA, intermediario obligatorio en la síntesis de StAR y la esteroidogénesis. El objetivo de este trabajo fue demostrar que ACS4 es una enzima regulada por ACTH que interviene en la síntesis de StAR y en la esteroidogénesis. Para ello ACS4 fue expresada en *E. coli* y purificada obteniéndose anticuerpos que reconocen por western blot a ACS4 en células Y1. ACTH (25 mUI/ml) incrementa la expresión de ACS4 en un 57%. El óxido de fenilarsina (PAO) y un derivado del ácido bencilfosfórico (BPA), inhibidores de la expresión de StAR y de la esteroidogénesis, inhiben la acción de ACTH sobre la expresión de ACS4 hasta niveles inferiores a los basales. La inhibición de StAR por PAO y BPA es paralela en dosis y tiempo a la inhibición de ACS4. Estos resultados demuestran que la inhibición de la síntesis de StAR por inhibidores de las tirosinas fosfatasa utiliza como uno de sus blancos a la ACS4 con la concomitante inhibición de la liberación de AA intermediario obligado para la expresión de StAR y de la esteroidogénesis.

INMUNOLOGÍA X

- 484. (456) MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES PARA FC DE IGG (RFcG) EN CÉLULAS B DE LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA (LLC-B).** GAMBERALE ROMINA, FERNANDEZ CALOTTI Paula, SANJURJO Julieta, VERMEULEN Monica, SANCHEZ AVALOS Julio, GEFFNER Jorge, GIORDANO Mirta.

IHHema Academia Nacional de Medicina, Hospital de Clínicas, Buenos Aires

Previamente describimos que las células B de LLC-B expresan, no sólo RFcGIIb, que transduce señales inhibitorias, sino también RFcGIIa, involucrado en señales de activación. Quisimos investigar si la IL4 e IFN γ modifican la expresión de estos receptores en linfocitos leucémicos como lo hacen en células mieloides. Para ello cultivamos mononucleares de pacientes LLC-B durante 2-10 días con IL4 o IFN γ y evaluamos la expresión de RFcGII por citometría de flujo con el AcMo AT10, que reconoce ambas isoformas. Encontramos que la IL4 inhibe la expresión de Fc γ RII (%células RFcGII+:73 \pm 7, 72 \pm 7, 46 \pm 8; control, IFN γ e IL4;n=9,p<0.005 control vs IL4). Para evaluar si alguna isoforma era particularmente afectada por IL4 usamos el AcMo IV3, específico para IIa ya que es el único capaz de discriminar entre isoformas. Resultados preliminares no muestran diferencias en la expresión de RFcGIIa, sugiriendo que, a diferencia de lo descrito para células mieloides, el RFcGIIb se inhibe por IL4 (%células RFcGIIa+:17 vs 16; 44 vs 42 para control vs IL4 de 2 pacientes). En linfocitos B normales la coagregación de la Ig de superficie con el RFcGIIb aborta la activación celular. Encontramos que las células LLC-B con IL4 movilizan Ca $^{++}$ vía Ig (con anti-IgM molécula entera) en forma más rápida y sostenida que el resto de los cultivos. En conjunto, estos resultados indican que la IL4 regula en forma diferencial la expresión de los Fc γ RII de las células LLC-B, favoreciendo su capacidad de activación.

- 485. (648) MECANISMOS DE ACCION DEL MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS (MTB) SOBRE LA APOPTOSIS INDUCIDA EN**

NEUTROFILOS (PMN) DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS (TB) E INDIVIDUOS SANOS (N).

ALEMÁN MERCEDES, DE LA BARRERA Silvia, (2) FRIAS Ana, (2) SAAB María, FINIASZ Marta, (2) ABBATE Eduardo, SASIAIN María.

IHHema, Academia Nacional de Medicina (2) Servicio de Neumonología. Hospital Muñiz, Buenos Aires

La activación de los PMN en sangre periférica de pacientes con TB (TB-PMN) primaria al PMN frente al Mtb induciendo apoptosis. En este trabajo evaluamos los mecanismos involucrados en la apoptosis espontánea (C) e inducida (Mtb) en PMN, determinándose el porcentaje de células apoptóticas ($X \pm ES, n=15$) por unión a Anexina V-FITC. Utilizando distintas relaciones Mtb:N-PMN (1:3, 1:1, 10:1, 20:1) observamos inducción significativa de la apoptosis aún en relaciones no fagocíticas (1:3). Al emplear componentes bacterianos como AraLAM o lisado total del Mtb, no se observó el mismo efecto. Evaluamos los mecanismos que emplearía el Mtb para inducir apoptosis en los PMN (1:3). Se descartó la acción indirecta del TNF α inducido por Mtb en TB-PMN, neutralizando con anticuerpos específicos para TNF α : C=18 \pm 3; C+antiTNF α =20 \pm 3; Mtb=30 \pm 5, p<0.001; Mtb+anti-TNF α =27 \pm 4 Además se descartó la participación de CD11b bloqueando este receptor: C+anti-CD11b=20 \pm 3; Mtb=30 \pm 3, p<0.001; Mtb+anti-CD11b=27 \pm 4. Evaluamos la participación de las MAPK p38 y ERK1/2 usando inhibidores específicos (SB203580 y PD98059 respectivamente): C+SB= Mtb=66 \pm 8; Mtb+SB=40 \pm 8 p<0.03, PD98059 no tuvo efecto. La expresión de p38 activada en PMN circulantes medida por citometría de flujo, se halló aumentada en los pacientes (TB-PMN=40 \pm 3; N-PMN=23 \pm 2; p<0.002). Los PMN, reconocen al Mtb entero sin involucrar CD11b, sin mediar fagocitosis induciendo apoptosis posiblemente mediante la activación de p38.

- 486. (652) CCL21/SLC ES MUCHO MÁS QUE UNA QUIMIOCINA CONSTITUTIVA** EBERHARD YANINA, MARTIN Andrea, UGUCCIONI Mariagrazia, ORTIZ Susana, RUIZ LASCANO Alejandro, MARÍANI Analía, SERRA Horacio.

Inmunología, Dpto. Bioquímica Clínica, Fac. de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba UNaM (Mariani A); Hospital Privado Córdoba (Ruiz Lascano A); IRB, Suiza (Uguccioni M)

Durante la dermatitis alérgica de contacto(DAC), el antígeno(Ag) es transportado por células de Langerhans(CL) a ganglio linfático(GL) donde se inducen Li T1/Tr que actuarán en piel. Mediante las técnicas de hibridación in situ e inmunohistoquímica, estudiamos la expresión de CCL21, CCL2, Langerina(Lang), CXCR3, CCR5, CCR4 y CCR3 en biopsias(B) de pacientes con DAC, a las 2, 10 y 48h de la aplicación del Ag responsable(B+), y a las 48h del Ag irrelevante(B-). En B+ CCL21 fue expresada en vasos linfáticos(VL) (2h: leve, 10h: leve, 48h: intenso), y CCL2 en keratinocitos basales(Kb) y células dérmicas(CD) aisladas(2h: neg, 10h: leve, 48h: intenso). Células epidérmicas Lang+(CEL+) fueron encontradas solo a las 2h, mientras que infiltrado mononuclear(MN) se observó a partir de las 10h siendo a las 48h: 58%CXCR3+, 51%CCR5+, 35%CCR4+, y 14%CCR3+. En B- hubo diferencias significativas ya que observamos leve expresión de quimioquinas, abundantes CEL+, 6%CXCR3+, 15%CCR5+, 12%CCR4 y 7%CCR3+. Demostramos por primera vez inducción de CCL21 en VL dentro de las primeras horas en B+ de pacientes con DAC y su participación en una respuesta inflamatorio tipo T1. La desaparición de CEL+ coincidió con la aparición de CD CCL2+ a las 10h, pudiendo ser CL emigrando hacia dermis por la acción de CCL21. Estamos estudiando la producción de CCL21 en otras formas de dermatitis.

- 487. (653) MONOCITOS Y NEUTRÓFILOS DE PACIENTES TUBERCULOSOS SON INSENSIBLES A LOS EFECTOS ANTI-INFLAMATORIOS DEL PÉPTIDO FORMILADO FMLP.** BEIGIER BOMPA-DRE MACARENA, ALEMÁN Mercedes, BARRIONUEVO Paula, FRANCO Clara, RUBEL Carolina, PALERMO Marina, ABBATE Eduardo, SASIAIN María, ISTURIZ Martín.

Instituto de investigaciones Hematológicas, Academia Na-

cional de Medicina División Tisiopneumología, Hospital F. J. Muñiz.

La tuberculosis es causada por *Mycobacterium tuberculosis*. Péptidos N-formilados de proteínas bacterianas están presentes en la infección. Debido a la actividad pro y anti-inflamatoria de estos péptidos, evaluamos el efecto del N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (fMLP) en la expresión del receptor para Fc de IgG (FcγRI) en monocitos de pacientes tuberculosos (TB). En 12 pacientes demostramos que IFN-γ e IL-10 inducen la sobreexpresión de FcγRI luego de 24h (MFI ± SEM; control: 112±16; IFN-γ: 277±60*; IL-10: 215±62*; p<0.05). Esto se evaluó por citometría de flujo y los monocitos se identificaron como células CD14+. El fMLP (1μM) inhibe la sobreexpresión de FcγRI inducida por IFN-γ (240 U/ml) o IL-10 (100 U/ml) en dadores normales (N). Este efecto no se observa en monocitos-TB (MFI ± SEM; N: IFN-γ: 212±30; fMLP+IFN-γ: 104±18*; p<0.05; TB: IFN-γ: 141±23; fMLP+IFN-γ: 127±14). Sobrenadantes de monocitos-TB estimulados con IFN-γ+fMLP no disminuyen la expresión de FcγRI, contrariamente a los sobrenadantes de monocitos-N. Sin embargo, sobrenadantes de monocitos-N disminuyen la expresión de FcγRI en monocitos-TB. Un fenómeno similar se observa entre neutrófilos-N y neutrófilos-TB. Los monocitos-TB dan mayor generación de radicales del oxígeno en respuesta a fMLP. En este trabajo mostramos dos mecanismos que contribuirían a la patología de la enfermedad: el aumento de FcγRI inducido por IFN-γ e IL-10 y la insensibilidad a los efectos anti-inflamatorios de los péptidos formilados.

- 488. (698) EVALUACIÓN DEL ESTADO DE ACTIVACIÓN Y APOPTOSIS EN NEUTRÓFILOS DE LIQUIDO PLEURAL (LP) DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS (TB-PMN).** ALEMÁN MERCEDES, DE LA BARRERA Silvia, (2) MUSELLA Rosa, (2) BALDINI Matías, ILARREGUI Juan, (2) ABBATE Eduardo, SASIAIN María.

IIHEMA, Academia Nacional de Medicina (2) Servicio de Neumología, Hospital Muñiz

La pleuresía es una de las complicaciones más frecuentes de la tuberculosis primaria o reactivación que se genera cuando el foco tuberculoso se rompe en el espacio pleural. El número de células en LP es muy variable, predominando los linfocitos y los PMN en etapas tempranas de la enfermedad. Los TB-PMN circulantes están activados, lo que correlaciona con un aumento de la apoptosis in vitro exacerbado por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Siendo el LP representativo del fenómeno inflamatorio in situ, evaluamos el estado de activación y la apoptosis de PMN en LP. Se obtuvieron por punción, LP de 8 pacientes con TB analizándose por citometría de flujo la expresión (IMF) de marcadores de activación, de la proteína p38 fosforilada y apoptosis (contenido de ADN), comparándose con la sangre periférica (SP) del mismo paciente, usando como control 2 LP de patologías no relacionadas. Se observó en TB-PMN la sobre-expresión de CD64 (SP=243±41; LP=707±214)*, CD11b(SP=594±126; LP=2746±801)* y TNF-R55 (SP=61±10; LP=438±254)* con disminución de CD16 (SP=2813±289; LP=1276±231)*, (*p<0.02) que se correlacionó con una apoptosis elevada (SP=3±0.3; LP=14±2). Además la expresión de la MAPK p38 activada, se vio elevada en SP y aún más en LP (LP:60±14; SP:34±6.3; N-SP:23±2). Los PMN pre-activados que migraron al foco infeccioso muestran una mayor activación y apoptosis, que podría deberse al Mtb o la inflamación, que favorecería la remoción de estas células limitando el daño tisular.

- 489. (913) "ANÁLISIS MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA(EGC) EN LOS PACIENTES INGRESADOS AL REGISTRO NACIONAL DE INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS".** BARESE CECILIA, COPELLI Silvia, ZANDOMENI Rubén, OLEASTRO Matías, ZELAZKO Marta, RIVAS Evamaría.

Sector Inmunología. Hospital de Niños "Dr R. Gutiérrez" CEDIE-CONICET, Lab. de Secuenciación INTA, División Inmunología Htal. de Pediatría "Dr J P Garrahan"

La EGC es una inmunodeficiencia primaria causada por defectos genéticos en 1 de 4 subunidades de la NADPH-oxidasa de

las células fagocíticas. La EGC ligada al X se origina por mutaciones en el gen CYBB (gp91phox) y defectos en los genes que codifican p47phox, p67phox ó p22phox causan la forma autosómica recesiva. El objetivo del estudio fue identificar las mutaciones responsables de la EGC en los pacientes de Argentina. Se analizaron 22 pacientes pediátricos, 19 varones y 3 mujeres. Se identificaron tres subgrupos de EGC por Western blot: 17 pacientes (77.2%) no expresaron gp91phox (X910), 1 paciente A470 y 3 pacientes de una familia A670. Por PCR, RT-PCR, SSCP y secuenciación automática sobre ADN genómico y complementario se identificaron 10 mutaciones diferentes en el gen CYBB. El estudio molecular confirmó mujeres portadoras en 11 familias no relacionadas y en dos pacientes las mutaciones serían de-novo. El gen de p47phox presentó la delección GT en el inicio del exon 2. Los estudios del gen de p67phox mostraron cambios en un aminoácido y una mutación intrónica. Las mutaciones en el gen CYBB mostraron una mayor distribución en los sitios de splicing del gen originando transcritos anómalos. Comprometieron los primeros exones y afectaron en todos los casos la expresión heterodimérica del citocromo b558 de membrana de los granulocitos. La mutación en NCF1 corresponde a la descrita en el 98% de los pacientes A470. NCF2 presentó una mutación intrónica y un polimorfismo benigno.

- 490. (936) "ESTUDIO DE VARIANTES ALÉLICAS (SNP) DE GENES DE INMUNIDAD INNATA EN PACIENTES CON FENOTIPO SEVERO DE ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA (EGC)".** BARESE CECILIA, COPELLI Silvia, ZANDOMENI Rubén, OLEASTRO Matías, ZELAZKO Marta, RIVAS Eva.

Sector Inmunología, Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" CEDIE-CONICET, Lab de Secuenciación INTA, División Inmunología Htal. de Pediatría "Dr J.P. Garrahan"

Se postula que ciertas variantes alélicas de genes de inmunidad innata podrían influenciar adversamente el pronóstico de pacientes con EGC. Objetivos: identificar los alelos más frecuentes en los genes de mieloperoxidasa (MPO), FcγRIIIa, FcγRIIIb y de MBL2 en pacientes con EGC. Analizar su utilidad como predictores positivos de complicaciones inflamatorias crónicas digestivas (GI), genitourinarias (GU) y autoinmunes. Por PCR, PCR alelo-específica, enzimas de restricción y secuenciación automática se estudiaron los cuatro genes en 22 pacientes pediátricos (10 meses-18 años) con EGC. Se revisaron las historias clínicas registrándose complicaciones crónicas inflamatorias GI, GU y autoinmunes. Se observó que 36.3% de los pacientes tuvieron complicaciones. Sobre 22 pacientes, el genotipo GG-463 de MPO se vio en el 63.6%, el HH131=31.8%, el NA1NA2=72.7%, y alelo B C y D de MBL2=40.9%. En los pacientes con complicaciones el valor predictivo positivo del genotipo GG-463=50%, HH131=42.8%, y NA1NA2=41.41%. La distribución de los genotipos en los pacientes con EGC no difiere de la presentada en testigos normales. La frecuencia de complicaciones fue menor a la publicada. Considerando que la muestra es pequeña y 3 pacientes son < 2 años, es necesario un seguimiento longitudinal mayor que permitirá definir si los SNP en los genes de inmunidad innata observados por este estudio, podrán ser pruebas útiles de detección de pacientes con EGC en mayor riesgo de complicaciones inflamatorias crónicas severas.

- 491. (1012) PLAN ALTERNATIVO PARA LA INMUNIZACIÓN CON VACUNA DTP.** GIL SILVINA, CASTRO Marisa*, LAVIGNE Victoria*, MATEO Nancy, ANDINO José*, DELUCHI Silvana, ATZORI Carlos, BRERO M Luisa, MANGHI Marcela*.

*Instituto "Dr. Carlos G Malbrán" Centro Nac. de Control de Biológicos Adm. Nac. de Lab. e Inst. de Salud * Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.*

La población infantil es protegida contra tétanos, difteria y tos convulsa por inmunización con vacuna DTPw que contiene Bordetella pertussis entera (Pw) y presenta alta reactogenicidad. Previamente demostramos en ratones que esta vacuna produce respuesta antitética y antipertúsica de tipo Th1/Th2 con produc-

ción de citoquinas pro-inflamatorias, innecesarias para la protección contra tétanos y difteria. La nueva vacuna DTPa menos reactogénica, compuesta por antígenos solubles de *B.pertussis*, produce respuesta de tipo Th2 para todos los antígenos sin generar la respuesta Th1 necesaria para la protección contra *B.pertussis* (bacteria intracelular). Con el fin de lograr respuestas adecuadas para cada antígeno, diseñamos un plan de inmunización alternativo que consiste en la inmunización con vacuna DT (día 0), Pw (día 14) y DTPa (días 21 y 28). Estudiamos la respuesta inmune de memoria en ratones BALB/c inmunizados según el plan alternativo versus la inmunización con DTPw o DTPa (días 0, 7, 21). Se evaluó el nivel de proliferación de células de bazo estimuladas con toxoide tetánico o *B.pertussis* y se midió el nivel de INF γ e IL-5 en sobrenadantes de cultivo. Con el plan alternativo se observó respuesta antitetánica de tipo Th2 y antipertúsica de tipo Th1/Th2. Los resultados ponen de manifiesto que la primoinmunización para tétanos y pertussis con vacuna DT y Pw, respectivamente, y el empleo de DTPa para los refuerzos permite generar respuestas apropiadas para ambos antígenos.

CARDIOLOGÍA IV

- 492. (571) ALTERACIONES ESTRUCTURALES EN CLITORIS Y VAGINA DE RATA ESPONTANEAMENTE HIPERTENSA.** TOBLLI JORGE, CAO Gabriel, CASABE Adolfo, ROMANO Salomón, BECHARA Amado.

Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán y División Urología, Hospital Durand

Se reconoce cierta prevalencia en disfunción sexual femenina en pacientes con hipertensión arterial. Objetivo: evaluar alteraciones morfológicas en clitoris (CL) y vagina (VA) de rata espontáneamente hipertensa (SHR) y en control normotenso (WKY). CL y VA de SHR y WKY (9 meses) se estudiaron con Masson; antiactina de músculo liso (SMA), anticólageno (COL I y III, y antiTGF β 1. SHR mostraron mayor ($p < .01$): SMA en sinusoide cavernoso de CL ($20 \pm 6.9\%$ vs $7 \pm 4.4\%$) y pared vascular ($16.1 \pm 3.6\%$ vs $9 \pm 2\%$), TGF β 1 pared de vasos CL ($2.7 \pm 1.4\%$ vs $1.4 \pm 0.5\%$), mayor pared/lumen ($p < .01$) en vasos de CL y VA y fibrosis intersticial ($60.7 \pm 4.9\%$ vs $38.6 \pm 2.7\%$), mayor COL I y II ($p < .01$) en CL y VA comparado a WKY. Fibras nerviosas de CL y VA en SHR presentaban fibrosis en peri/endoneuro. SHR con correlación entre presión arterial (PA) y: 1) SMA en sinusoide cavernoso ($r = 0.87$ $p < .01$); 2) fibrosis ($r = 0.81$ $p < .01$); 3) COL I, COL III ($r = 0.92$ $p < .01$; $r = 0.84$ $p < .01$) en CL. Similares hallazgos entre PA y COL I y III ($r = 0.68$ $p < .05$; $r = 0.75$ $p < .05$) en VA. SHR presentaron alteraciones morfológicas en CL y VA correlacionadas con niveles de PA. El incremento en matriz extracelular afectó el intersticio de CL y VA y sus estructuras nerviosas.

- 493. (620) EFECTO ANGIOGENICO DE PERINDOPRIL EN MIOCARDIO DE RATA ZUCKER.** TOBLLI JORGE, CAO Gabriel, DE ROSA Graciela, PIORNO Pablo, PAGANO Patricia.

Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán y División Patología del Hospital de Clínicas, Buenos Aires

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) posee reconocidas propiedades angiogénicas. Por otra parte tanto la diabetes como la hipertensión arterial se asocian con rarefacción vascular a nivel miocárdico. Nuestro objetivo fue evaluar el posible efecto de perindopril (P) sobre el VEGF en miocardio en un modelo de diabetes e hipertensión como es la rata Zucker (OZR) y su control (LZR). G1 OZR (n=10); G2 OZR+P (n=10); G3 LZR (n=10). G2 con P 3mg/kg/día por 6 meses. Estudio miocárdico con cortes ultrafinos (MOAR), inmunohistoquímica con monoclonal anti-VEGF. Se evaluó diámetro miocítico (dM); No. de miocitos (NoM); No. de vasos (NoV., relación NoM/NoV. Por IHQ VEGF (%/area). Al 6to. mes, presión sistólica (G1: 152.4 ± 3 ; G2: 127 ± 3.2 ; G3 124.2 ± 1.7). dM (G1: $32.7 \pm 2.6^*$; G2: 21.2 ± 1 ; G3: 20.9 ± 2.1). NoM (G1: $19.6 \pm 2.1^*$; G2: 47.3 ± 1.5 ; G3: 47 ± 1.1). NoV (G1: $10.1 \pm 1.7^*$; G2: 31.2 ± 2.7 G3: 31.4 ± 3.1). NoM/NoV (G1: 2

$\pm 0.4^*$; G2: 1.5 ± 0.1 ; G3: 1.5 ± 0.1). VEGF (G1: $1.04 \pm 0.03^*$; G2: 7.45 ± 2.45 ; G3: 2.29 ± 0.43). $*p < .01$ vs. G2 y G3. Se observó correlación positiva ($p < .01$) entre VEGF y NoV en los tres grupos (G1: $r = 0.84$; G2: $r = 0.88$; G3: $r = 0.80$). El grupo OZR+P presentó menor dM, mayor NoM, NoV y % VEGF, mejor relación NoM/NoV. Las OZR mostraron rarefacción vascular asociada a disminución de VEGF en miocardio. El tratamiento con perindopril produce un incremento en el número de vasos miocárdicos probablemente asociados a la estimulación de VEGF.

- 494. (718) CONTRACCION Y RELAJACION RESULTANTES DE LA ACCION DE LA CAFEINA SOBRE LOS DEPOSITOS INTRACELULARES DE CALCIO EN LA AORTA DE RATA: POSIBLES MECANISMOS INVOLUCRADOS.** RINALDI GUSTAVO J.

Facultad de Ciencias Exactas UNLP

Objetivo: estudiar posibles mecanismos involucrados en la relajación y contracción por Cafeína en aorta de rata aislada. Métodos: luego de 1 h de estabilización se incubaron anillos por 3 minutos en $Ca^{2+} = 0$ mM + 0,5 mM EGTA, midiendo el área en mgF.mgT $^{-1}$.seg entre la fuerza y línea basal por 15 minutos exactos luego de agregar Cafeína 10 mM (CAF), en situación control o con intervenciones agregadas. Resultados: En el control (n=17) la contracción duró 86 ± 8 segs con área (AC) de $3,23 \pm 0,37$, seguida hasta los 15 minutos por relajación sostenida, con área (AR) de $48,49 \pm 4,54$ (relación AR/AC = 18 ± 4). La presumible elevación del Ca citosólico (Cai) en la estabilización (Ko de 35, 70 ó 105 mM, n= 9 c/u) no alteró el AC, pero la detención de la Na/K-ATPasa (Ko= 0 mM, n= 9) lo aumentó a $14,65 \pm 1,92$ ($p < .05$). La relajación por CAF no disminuyó bloqueando el RS con ácido ciclopiazónico 20 μ M (n=8), ni deteniendo el intercambio Na/Ca (Nao= 0 mM [n=6] ó CINI= 2 mM [n=6]), ni bloqueando la Ca-ATPasa de membrana (iodoacetato 1 mM + dinitrofenol 3 μ M, n=6); pero sí por Ko= 0 mM (AR/AC= 8 ± 3 , $P < .05$). El Isoproterenol 1 μ M bajó la AC a $0,65 \pm 0,13$ y aumentó la AR a $180,47 \pm 19,41$ ($p < .05$). Conclusiones: 1) La CAF moviliza Ca no inmediatamente dependiente del Cai; 2) Luego induce relajación dependiente del AMPc intracelular, resistente al bloqueo de los principales mecanismos de extrusión y/o retoma de Ca, y 3) Ambos procesos son posiblemente modulados por la actividad de Na/K-ATPasa.

- 495. (731) DEFORMABILIDAD ERITROCITARIA EN LA ARTRITIS REUMATOIDEA. RELACIÓN CON LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE ÁCIDO HIALURÓNICO.** LUQUITA ALEJANDRA, SVETAZ María², URLI Leda¹, GENNARO Ana², VOLPINTESTA Ricardo¹, PALATNIK Simón¹, RASIA Marta² ¹

¹Cátedra Biofísica Fac. Ciencias Médicas ²CIURN² Fac. Cs. Bioq. y Farm UN Rosario ³Fac. Bioq. y Cs. Biol. UNLeINTEC (CONICET) Santa Fe

Se ha demostrado que el aumento de la concentración sérica de ácido hialurónico en los pacientes artríticos se asocia a la actividad de la enfermedad. En un trabajo previo hemos comprobado que los parámetros hemorreológicos son mejores indicadores de actividad de la artritis reumatoidea (AR) que los test bioquímicos actualmente utilizados en clínica. Objetivo: relacionar ambos indicadores de actividad de la AR. Métodos: Se determinó en los pacientes que presentan la enfermedad en estado activo, la concentración sérica de ácido hialurónico [AH]s por ELISA y el índice de rigidez (IR) por filtración a través de membranas Nucleopore. Resultados: (mediana, IC95%) IR [[Controles]] 7, 6-9 (n: 21); IR [[AR]] : 11, 8-14 (n: 31) ($p < .0001$ vs. controles); [AH]s [[Controles]] : 20 10-44,98 (n: 21); [AH]s [[AR]]: 155, 80,44-346,34 (n: 31) ($p < .0000$ vs. controles). Coeficiente de Spearman (r [[s]]) entre IR [[AR]] vs.[AH]s [[AR]]: 0.83 ($p < .0000$ vs. controles). El incremento en el índice de rigidez eritrocitario de pacientes artríticos correlacionó significativamente con los niveles séricos elevados de ácido hialurónico, lo que sugiere que el ácido hialurónico sería el causante de la agresión a las membranas celulares que se manifiesta en una menor deformabilidad eritrocitaria de modo que tanto el IR como la [AH]s serían indicadores equivalentes de actividad de AR.

- 496. (756) EFECTOS OPUESTOS DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD (LDL-COL) Y LAS DE ALTA DENSIDAD (HDL-COL) SOBRE LA VISCOSIDAD PLASMÁTICA EN MUJERES MENOPÁUSICAS.** SPENGLER ISABEL, GOÑI Guillermina, RASIA Marta.

Catedra Biofísica Facultad de Medicina

Se sabe que en la menopausia está elevado el riesgo de enfermedad cardiovascular. También se ha probado la asociación opuesta de las lipoproteínas con el riesgo de aterosclerosis. El objetivo del presente trabajo fue investigar la magnitud del efecto de las lipoproteínas sobre la viscosidad plasmática ($n[[p]]$) en mujeres menopáusicas. Se determinó la ($n[[p]]$) de 41 mujeres menopáusicas con un viscosímetro cono plato, los niveles séricos de HDL-col y LD-col con el método enzimático colorimétrico y se correlacionaron los datos. Los resultados demostraron que la LDL-col está positivamente asociada con la ($n[[p]]$) ($r = 0,34$, $p < 0,02$) y la HDL-col lo hace en forma negativa ($r = -0,39$, $p < 0,01$). Un modelo de regresión múltiple reveló que el 25% de la variación de la ($n[[p]]$) puede ser atribuida a estas lipoproteínas ($F = 6,36$, $p = 0,008$, $p(\text{LDL}) = 0,01$, $p(\text{HDL}) = 0,02$). Con los coeficientes obtenidos del estudio estadístico se puede deducir la siguiente ecuación: ($n[[p]]$) = $1,69 - 0,00439 \cdot \text{HDL-col} + 0,00133 \cdot \text{LDL-col}$. Estos resultados demuestran que estas lipoproteínas tienen un efecto significativo y opuesto sobre la ($n[[p]]$), el cual correlaciona con su asociación con el riesgo de aterosclerosis. El presente trabajo muestra de qué forma un parámetro de la reología sanguínea como es la ($n[[p]]$) puede representar un nexo entre las alteraciones metabólicas y las modificaciones circulatorias en la menopausia.

- 497. (915) EVALUACIÓN DE VISCOSIDAD SANGÜINEA Y MORFOLOGÍA DE GLÓBULOS ROJOS EN HIPERTENSIÓN.** D'ARRIGO MABEL, FORESTO Patricia, DI TULLIO Liliana, RASIA Rodolfo, VALVERDE Juana.

Facultad de Cs Bioquímicas y Farmaceuticas Universidad Nacional Rosario Laboratorio de Inmunoematología Hemorreología - Dpto Bioq Clínica - Facultad de Cs Bioq y Farm UNR

En la hipertensión arterial (HA) es posible observar cambios en la microcirculación asociados con alteraciones hemorreológicas donde la deformabilidad de las células circulantes tiene una influencia fundamental. Nuestro objetivo fue evaluar el perfil de viscosidad y morfología de los glóbulos rojos (GR) en pacientes con HA ($n = 30$) comparados con un grupo control ($n = 13$). Se midió la viscosidad de sangre entera (VSE) y del plasma (VP) con un viscosímetro. La morfología de GR fue evaluada según el método de Zipursky-Forconi. Los resultados se expresan a través del EMI Índice de Morfología Eritrocitaria como la relación entre el % de formas bowl y discocitos observados por microscopía óptica. Resultados: HT = $VSE 7.73 \pm 2.26$, $VP 2.96 \pm 0.75$, $EMI 0.88 \pm 0.69$; control = $VSE 6.03 \pm 2.28$, $VP 2.43 \pm 0.43$, $EMI 2.07 \pm 1.05$ Test Mann-Whitney $p < 0.001$. En los pacientes con HA se observa un predominio de discocitos, células de menor deformabilidad, con un EMI estadísticamente disminuido comparado con el grupo control. El análisis de los resultados, por el test de Mann Whitney, muestra un incremento significativo en los valores de VSE a ambas velocidades y VP sólo a bajas velocidades. Cambios en el perfil de viscosidad, típicos de HA, juegan un papel importante en las alteraciones de flujo a nivel de macro y microcirculación. El análisis del EMI permite evaluar la deformabilidad eritrocitaria y la influencia del ambiente externo (microcirculación) responsables de la aparición de morfologías alteradas.

- 498. (940) PREVALENCIA DE HIPERLIPOPROTEINEMIA Y RELACIÓN ÁCIDOS GRASOS OMEGA 6/OMEGA 3 PLASMÁTICOS EN UNA POBLACIÓN DE LA PCIA. DE BUENOS AIRES.** CASCONI GRACIELA, GARCÍA S., GORLA M., ZANETTI A., MORENO E., DAMMIG L., PEREYRA I., VARELA S., SIMI M., PETERSON G., MESA M., AGUILAR D., VUJOSEVICH J., TAVELLA M., POR Democab.

Centro de Analistas Clínicos Distrito X Cooperativa Obrera de Bahía Blanca, UAP, UNLP, PROPIA.

Introducción: North Karelia Project ha demostrado ser exitoso como base para el diseño de Programas Nacionales de Prevención. En el contexto de un proyecto de intervención nutricional (DEMOCAB) que se realiza en la localidad de Cabildo, se ha finalizado con la línea de base. La relación de ácidos grasos W6/W3 en plasma ha demostrado ser un indicador de mortalidad cardiovascular. Objetivos: Determinar la prevalencia de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y la relación W6/W3 en fosfolípidos plasmáticos, así como establecer la prevalencia de tabaquismo. Materiales y Métodos Estudio de tipo observacional, descriptivo, de prevalencia. Se seleccionaron de forma aleatoria simple los integrantes pertenecientes para los grupos de edad y sexo previstos de los hogares muestreados. Las determinaciones de colesterol y triglicéridos se realizaron por el método enzimático, y la composición en ácidos grasos por GLC. Resultados El 60% de la muestra presentó hipercolesterolemia. El 30% de la muestra presentó hipertrigliceridemia. El rango de relación W6/W3 hallado fue entre 8,26 y 13,55. La prevalencia de tabaquismo fue de 32%. Conclusión Por primera vez se investigan los valores de la relación de ácidos grasos W6/W3 en una población latinoamericana. Una elevada relación como la encontrada, expresa una baja ingesta de ácidos grasos W3 y se asocia a aumento de mortalidad cardiovascular. Los resultados permitirán realizar intervenciones más específicas y una comparación final.

- 499. (944) CRONODINAMIA DE LA HIPERTROFIA DE LOS MIOCITOS EN ÁREAS ALEJADAS AL INFARTO DE MIOCARDIO EXPERIMENTAL EN CONEJO.** PÉREZ SUSANA, GONZÁLEZ Germán, MASUCCI Alejandro, GELPI Ricardo, MORALES Celina.

Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular Laboratorio de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología Facultad de Medicina UBA

La hipertrofia de los miocitos (HM) en áreas alejadas del infarto compromete al remodelamiento ventricular post infarto de miocardio (IM). Sin embargo, no se ha descrito una secuencia temporal de esta hipertrofia. El objetivo fue evaluar morfológicamente la evolución temporal de HM en áreas alejadas del IM en conejo. Se utilizaron 40 conejos con ligadura de la coronaria izquierda. Se sacrificaron a los 2 días ($n = 3$), 4 días ($n = 3$), 6 días ($n = 3$), 8 días ($n = 3$), 12 días ($n = 4$), 14 días ($n = 4$), 18 días ($n = 4$), 26 días ($n = 4$), 35 días ($n = 4$) y 56 días ($n = 4$) post IM; 4 animales "sham" sirvieron como control. Los corazones se cortaron de punta a base y se colorearon con H-E y tricrómico de Masson. Se realizaron mediciones morfométricas para tamaño de IM (TIM, %), diámetro (μ) y área (μ^2) de los miocitos en miocardio no infartado, el septum. Se evaluaron 70 miocitos en cada corazón. El TIM promedio entre los grupos fue $25.1 \pm 3.8\%$ ($X \pm SEM$). $*p < 0.05$ vs sham.

	Sham	Día 4	Día 8	Día 14
Diámetro	13,37 \pm 0,28	18,50 \pm 0,51*	18,59 \pm 0,48*	20,50 \pm 0,46*
Área	165,74 \pm 5,02	212,47 \pm 8,91*	236,02 \pm 8,87*	236,48 \pm 7,69*
		Día 26	Día 35	Día 56
Diámetro		22,30 \pm 0,53*	21,13 \pm 0,43*	17,42 \pm 0,34*
Área		299,86 \pm 9,10*	257,52 \pm 9,20*	186,14 \pm 6,29

En nuestras condiciones experimentales se observó un aumento del diámetro transversal y del área de los miocitos a partir del día 4 post IAM que sigue aumentando hasta el día 26. Dicha HM disminuye en la etapa de cicatrización.

- 500. (950) LESIONES EN AORTA DE RATAS PRODUCIDAS POR HIPERFIBRINOGENEMIA COMPATIBLES CON ATROFIA.** MOYA MÓNICA, CAMPANA Vilma, GAVOTTO Antonio, SIMES Juan, SPITALE Luis, PALMA José.

Cátedra de Física Biomédica. UNC

Se analizó la relación Factor de necrosis tumoral (TNF- α) - Fibrinógeno (F) como promotores y marcadores de lesiones anatomopatológicas (AP) precoces vasculares compatibles con aterogénesis. El mecanismo proinflamatorio se indujo por injurias múltiples (IM) (laparotomías). Se estudió en ratas machos : A) Control, B) IM x 60 ds., C) IM x 90 ds y D) IM x120 ds. F (mg/dL) se determinó por espectrofotometría y TNF- α (pg/dL) por Elisa. AP se analizó por Microscopía óptica. TNF- α y F incrementaron significativamente en todos los grupos IM (F: 359,7 \pm 9,9-TNF- α : 66,4 \pm 2,3; F: 406,85 \pm 8,9-TNF- α : 68,7 \pm 4,6 y F: 427 \pm 9,8-TNF- α : 73,1 \pm 2,8) comparados con el control (F: 207,0 \pm 3,0-TNF- α : 15,7 \pm 1,8) siendo p <0,001, <0,01 y 0,001 respectivamente. Estos incrementos correlativos entre TNF- α y F se asoció con denudación y pavimentación endotelial, protrusión de pared hacia la luz vascular, engrosamiento íntimal, cambios mixoides y aumento de la matriz extracelular (90% en B, 96% en C y 97% en D) agregándose en D células espumosas. Estos resultados se relacionan con la primera fase de la clasificación de Fuster, caracterizada por disfunción endotelial e histológicamente por lesiones tipo I, II y III de Stary, asociación que evidencia que la aterosclerosis presenta una serie de respuestas celulares y moleculares típicas que corresponden a un proceso inflamatorio. TNF- α y F serían marcadores sensibles y específicos en la evaluación de riesgo inicial en aterogénesis.

- 501. (986) PRODUCCIÓN VASCULAR DE PROSTANOIDES EN LA RATA CON SOBRECARGA DIETARIA DE FRUCTOSA.** PUYÓ ANA, CAVALLERO Susana, MAYER Marcos, KIPER Cecilia, PEREDO Horacio.

Cátedra de Biología Celular e Histología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Cátedras de Fisiopatología y Farmacotecnia I, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA)-CONICET

En la rata, una dieta rica en fructosa (F) aumenta la presión arterial y produce alteraciones metabólicas. Previamente hallamos modificaciones en la contractilidad vascular en este modelo. Nuestro objetivo fue estudiar la producción vascular de prostanoideos (PR). Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho: control (C) y F (10% P/V en el agua de bebida) a las 2-3 (etapa aguda, FA) y 22 semanas (etapa crónica, FC). La aorta (A) y el lecho mesentérico (LM) se incubaron en Krebs 60 min a 37°C. En el medio de incubación se midieron los PR liberados (HPLC). Se detectaron prostaglandinas (PG: ng de PR/mg de tejido) F2 α y E2 así como PG 6-cetoF1 α y tromboxano (TX) B2, metabolitos de prostaciclina (PGI2) y TXA2, respectivamente. En FA, no hubo cambios en la producción de PR en A, mientras que en LM la PGE2 disminuyó (C, 92,9 \pm 18,2; n=5; FA, 30,1 \pm 4,7, n=6; p<0,01). En FC se redujo la PGI2 en A (C, 192,4 \pm 19,9; n=6; FC, 73,8 \pm 12,4, n=6; p<0,01) y en LM hubo una reducción en la PGE2 (C, 87,4 \pm 13,3; n=7; FC, 24,7 \pm 4,9, n=7; p<0,001) y un incremento en la PGI2 (C, 96,4 \pm 12,5; n=7; FC, 208,2 \pm 31,3, n=7; p<0,01). Además, esta producción es mayor que la correspondiente al grupo FA (140,5 \pm 21,3; n=6; p<0,01). La F aguda redujo la PGE2 en LM. La F crónica disminuyó la PGI2 en A, y en LM disminuyó PGE2 y aumentó PGI2, ambas vasodilatadoras. Este incremento, así como el de PGI2 en FC con respecto a FA, podrían ser mecanismos compensatorios de otros factores prohipertensivos.

- 502. (1005) MODIFICACIONES EN LOS PROCESOS DE CAPTACIÓN NEURONAL DE NORADRENALINA EN EL HIPOTÁLAMO DE LA RATA CON SOBRECARGA DIETARIA DE FRUCTOSA.** MAYER MARCOS, CAVALLERO Susana, PEREDO Horacio, RODRÍGUEZ FERMEPÍN Martín, FERNÁNDEZ Belisario, PUYÓ Ana.

Cátedra de Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Cátedras de Fisiopatología y Farmacotecnia I. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA)-CONICET.

Una dieta rica en fructosa (F) produce en la rata aumento de la presión arterial (PA) y alteraciones metabólicas. Previamente encontramos cambios en la contractilidad y morfología vascular en animales con sobrecarga aguda (2-3) y crónica (22 semanas) de F. En modelos de hipertensión arterial se hallaron alteraciones en la captación y liberación de noradrenalina (NA) hipotalámicas. Nuestro objetivo fue investigar la neurotransmisión noradrenérgica en el hipotálamo de ratas Sprague-Dawley macho: control (C) y F (10% P/V en el agua de bebida). Se registró la PA indirecta: etapa aguda (mmHg, F: 131 \pm 2 vs C 123 \pm 1, p<0,01, n=11 y 12); etapa crónica (F: 132 \pm 3 vs C 116 \pm 3, p<0,01, n=12 y 13). Se realizaron experimentos "in vitro" de captación y liberación de ((3))H-NA en el hipotálamo. Etapa aguda: la captación neuronal basal de NA (dpm/ μ g proteína) fue menor en F (n=16): 3,86 \pm 0,21 vs C (n=12): 5,18 \pm 0,49, p<0,001. La liberación de NA estimulada por KCl 25 mM (% de la liberación basal) fue similar: F (n=8): 2,49 \pm 0,21 vs C (n=8): 2,61 \pm 0,13, ns. Etapa crónica: la captación fue menor en F (n=9): 5,28 \pm 0,24 vs C (n=12): 6,35 \pm 0,33, p<0,03. La liberación fue similar: F (n=12): 3,03 \pm 0,23 vs C (n=11): 3,53 \pm 0,33, ns. Los resultados sugieren que la sobrecarga de F produce modificaciones en la captación neuronal de NA a nivel hipotalámico, lo que junto con la hiperreactividad vascular contribuirían a la alteración de los parámetros hemodinámicos en este modelo.

- 503. (1107) RESERVA CONTRÁCTIL Y FOSFORILACIÓN DE FOSFOLAMBAN INDUCIDA POR ESTIMULACIÓN β -ADRENÉRGICA EN CORAZONES SOMETIDOS A ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN.** FERRERO PAOLA, MUNDIÑA-WEILENMANN Cecilia, SAID Matilde, VALVERDE Carlos, VITTONI Leticia, MATTIAZZI Alicia.

Ctro Investigaciones Cardiovasculares, La Plata

La respuesta a distintos agentes inotrópicos se ha encontrado normal o disminuida en el miocardio reperfundido luego de un breve período de isquemia. El presente trabajo estudió la reserva contráctil frente a un estímulo β -adrenérgico y la fosforilación del efector final de la cascada β -adrenérgica, fosfolamban (PLB), en corazones de rata perfundidos (Langendorff). Luego de 20 min de isquemia global normotérmica y 30 min de reperfusión (I/R), los corazones se perfundieron con el agente β -adrenérgico isoproterenol (Iso, 30 nM). Los resultados se compararon con el efecto del Iso en corazones no isquémicos (NI) perfundidos por igual período de tiempo. Iso aumentó la velocidad máxima de desarrollo de la presión en 89,9 \pm 9,8% y 42,3 \pm 5,0% y disminuyó el tiempo hasta la mitad de la relajación en 10,0 \pm 1,3 msec y 4,6 \pm 1,1 msec (n=7, corazones NI y n=14, corazones sometidos a I/R respectivamente, p<0,05). La fosforilación de los sitios de PLB (Ser((16)) y Thr((17))), inmunodetectada y expresada como % de la fosforilación inducida por Iso en corazones NI disminuyó a 75,8 \pm 7,2 (n=12, Ser((16))) y 62,4 \pm 10,2 (n=12, Thr((17))) en corazones sometidos a I/R. Si bien la estimulación β -adrenérgica reclutó una reserva contráctil y relajante en corazones sometidos a I/R, ésta fue significativamente menor que la observada en corazones NI y se asoció a menor fosforilación de Ser((16)) y Thr((17)) de PLB. Los resultados indican que la cascada β -adrenérgica no está intacta en corazones sometidos a I/R.

- 504. (1172) RELACION ENTRE LA ENDOTELINA 3 (ET3) Y EL SISTEMA DEL OXIDO NITRICO (NO) RENAL.** MAJOWICZ MÓNICA, GONZÁLEZ BOSC Laura, VIDAL Norberto.

Cátedra de Biología Celular e Histología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Estudiamos el efecto de 2 dosis de ET-3 sobre la actividad NOS renal en 3 grupos de ratas Wistar machos: A y B (5 y 50 ng/Kg/min ET3) y C (control: 0.05 ml/min de solución fisiológica [SF]); n=3. Colocamos cánulas en tráquea para ventilación y en yugular para infundir SF y/o ET-3. Luego de estabilizar 45 min con SF se infundió ET3 durante 60 min y se extrajeron los riñones, se fijaron con paraformaldehído 4%, se crioprotegieron, se congelaron y cortaron en secciones de 14mm montándolas sobre portaobjetos. La NOS se evaluó midiendo la densidad óptica de la tinción obtenida con la técnica histoquímica NADPH diaforasa. La actividad NOS au-

mentó en: túbulos colectores (TC) de corteza externa (CE) de A: 0.30 ± 0.01 vs C: $0.27 \pm 0.01^*$; en TC de corteza yuxtamedular (CY) de A: 0.32 ± 0.01 vs C: $0.28 \pm 0.01^*$; en túbulos proximales (TP) de CE de A: 0.35 ± 0.01 y de B: 0.33 ± 0.01 vs C: $0.29 \pm 0.01\#$; en TP de CY de A: 0.43 ± 0.01 vs C: $0.37 \pm 0.01\#$; en glomérulos de A: 0.31 ± 0.01 vs C: $0.28 \pm 0.01^*$ y en mácula densa de A: 0.41 ± 0.01 vs C: $0.36 \pm 0.01^*$ y disminuyó en médula externa de A: 0.32 ± 0.01 y de B: 0.30 ± 0.01 vs C: $0.38 \pm 0.01\#$; en médula interna de A: 0.27 ± 0.01 y de B: 0.27 ± 0.01 vs C: $0.30 \pm 0.01\#$ y en papila de B: 0.26 ± 0.01 vs C: $0.29 \pm 0.01\#$: $*p < 0.05$; $\#p < 0.001$ para ANOVA y Tuckey. Los resultados avalarían la hipótesis de una relación entre los sistemas de NO y Endotelinas renales y sustentarían la posibilidad que al menos algunos de los efectos de la ET3 sobre la función renal serían modulados por el NO.

ENDOCRINOLOGÍA VI

- 505. (520) ANALOGÍAS ENTRE LAS RATAS ESPONTANEAMENTE DIABÉTICAS ESS Y PACIENTES DIABÉTICOS, CON NEFROPATÍA Y SIN RETINOPATÍA.** PICENA JUAN CARLOS, DANIELE Stella M, ARIAGA Sandra, MARTÍNEZ Stella M, TARRÉS María Cristina, MONTENEGRO Silvana M, HISANO Noriyuki, MORISOLI Lida, D'OTTAVIO Alberto E.

Facultad de Ciencias Médicas- Consejo de Investigaciones- Universidad Nacional de Rosario

Kanauchi et al(1998) analizaron pacientes diabéticos tipo 2 con una rara divergencia: nefropatía sin retinopatía. Las ratas eSS, con diabetes espontánea tipo 2 más conspicua en machos y agravada con la edad, no presentan retinopatía aún a edades avanzadas. Ello llevó a cotejar datos de dichos pacientes (P=5) con los de 15 ratas macho eSS y 14 controles Wistar (W) de 21 meses. La edad de P (media±SEM) fue de 61 ± 4 años y la diabetes tenía 11 ± 2 años de duración. eSS, con dieta ad libitum, presentó hiperglucemias (mg/dl) de ayuno y tras 120min de sobrecarga glucídica y alta fructosamina ($\mu\text{mol/l}$) (170 ± 3 vs 110 ± 4 , $p < 0.001$; 339 ± 20 vs 120 ± 11 , $p < 0.001$; 198 ± 7 vs 77 ± 8 , $p < 0.001$). La proteinuria (mg /24h) fue en P: 3920 ± 295 y en eSS 352 ± 43 vs. W: 33 ± 5 , $p < 0.001$; la creatinemia (mg/dl) fue en P: 2.6 ± 2.07 y en eSS 1.8 ± 0.06 vs. W: 0.7 ± 0.22 , $p < 0.001$. En P el ClCr (ml/min) fue 59 ± 13 e inferior en las ratas eSS respecto de W (0.41 ± 0.04 vs 1.03 ± 0.06 , $p < 0.05$). Los pacientes tenían lesiones glomerulares difusas y nodulares como las ratas eSS, en las que, además, se vio dilataciones tubulares con contenido proteináceo y aumento de diámetros corpusculares en nefrones superficiales y yuxtamedulares y de los de asas delgadas en los yuxtamedulares. Se corroboró la ausencia de retinopatía. Más allá de las diferencias inespecíficas, determinadas analogías entre los datos cotejados permiten proponer a la rata eSS como modelo para el estudio de posibles causas de la llamativa divergencia hallada en los pacientes.

- 506. (563) REGULACIÓN DE LOS NIVELES DE GLUTATIÓN EN LAS CÉLULAS DE SERTOLI POR HORMONAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y CITOQUINAS.** MAZZONE GRACIELA, SCHEINGART Helena F.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas. Hospital de Niños R. Gutiérrez, Buenos Aires

La célula de Sertoli (SC) en el túbulo seminífero se encuentra bajo el control de FSH y de factores proteicos de producción local. El glutatión reducido (GSH) es un tripéptido que actúa en la detoxificación de xenobióticos y en la defensa celular contra el estrés oxidativo. Su nivel intracelular es el balance entre la síntesis, a través del ciclo gamma-glutamil y la pérdida en la conjugación con xenobióticos o en los procesos de óxido-reducción. El objetivo de este trabajo fue analizar los niveles de GSH y de las enzimas relacionadas: gamma-glutamil transpeptidasa (GTP) y glutatión-S-transferasa (GST) en SC bajo los estímulos de hormonas, factores de crecimiento y citoquinas. Se determinaron en SC de ratas inmaduras los niveles de GSH intracelular y las actividades de GTP y GST. Resultados: GSH: basal: 127 ± 20 ;

FSH: 126 ± 16 ; FGF: $197 \pm 32^*$; EGF: $189 \pm 25^*$; NGF: 134 ± 10 ; INS: $157 \pm 13^*$; TNF: 122 ± 14 pmol/ μgDNA , X±SD, n=4, $*p < 0.05$. GTP se estimuló significativamente por todos los factores ensayados, salvo por NGF. GST: basal: 5.9 ± 0.9 ; FSH: $10.7 \pm 0.4^*$; FGF: 5.7 ± 0.8 ; EGF: $8.3 \pm 1.3^*$; NGF: 6.9 ± 1.1 ; INS: $8.7 \pm 1.3^*$ nmol/ μgDNA .min. El tratamiento conjunto con FGF+FSH potenció la acción de FGF sobre el contenido de GSH. (%control: FGF: $161 \pm 10^*$; FSH: 106 ± 15 ; FGF+FSH: $209 \pm 11^*$). Los resultados obtenidos sugieren que los niveles de GSH y la actividad de la enzima de síntesis (GTP) y la de conjugación (GST) están diferencialmente regulados por hormonas, factores de crecimiento o citoquinas en las células de Sertoli.

- 507. (709) LA MELATONINA INHIBE LA RESORCIÓN ÓSEA Y POTENCIA LOS EFECTOS ÓSEOS DEL ESTRADIOL (E2) EN RATAS OVARIECTOMIZADAS.** LADIZESKY MARTA, BOGGIO Verónica, ALBORNOZ Liliana, CASTRILLÓN Patricia, MAUTALEN Carlos, CARDINALI Daniel P.

Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA

Se examinó el efecto de la melatonina sobre el metabolismo óseo en ratas ovx tratadas o no con E2 (n= 7-9/grupo). La melatonina se administró en agua de bebida ($25 \mu\text{g/ml}$) y el E2 ($10 \mu\text{g/kg}$) se inyectó s.c. 5 días/semana durante 60 días post-cirugía. Cada 15 días se determinaron deoxipiridinolina urinaria (un marcador de resorción ósea), calcemia y fosfatemia y a los 60 días, contenido mineral óseo y de grasa corporal densitométricamente. El peso corporal aumentó 13% post-ovx y disminuyó $9-12\%$ luego de melatonina o E2 ($p < 0.001$). OvX aumentó la grasa corporal (36.9 ± 2.1 g/100 g vs. 14.8 ± 2.3 en control, media±ES, $p < 0.001$), un efecto no observado luego de melatonina (22.1 ± 1.9) o E2 (24.1 ± 2.9). OvX aumentó la excreción de deoxipiridinolina a $241 \pm 28\%$ del control, efecto inhibido por E2 ($82 \pm 5\%$ del control). Esta acción del E2 fue potenciada por melatonina ($27 \pm 4\%$ del control, $p < 0.01$). E2 aumentó la calcemia y fosfatemia ($p < 0.001$), siendo el efecto sobre fosfatemia inhibido por melatonina. La densidad y contenido mineral óseos disminuyeron luego de ovx y aumentaron luego de E2 ($p < 0.01$). Melatonina aumentó el contenido mineral de esqueleto total y tibia en 11 y 18% ($p < 0.04$). Los mayores valores de densidad ósea se observaron en ratas ovx tratadas con E2 y melatonina ($p < 0.03$). La melatonina a) inhibe la pérdida de mineral óseo inducida por la ovx en ratas, b) potencia la acción de E2 en hueso de ratas ovx, c) reduce el incremento en grasa corporal provocado por la ovx.

- 508. (868) RELACIÓN ENTRE NIVELES DE T3 SÉRICA Y DE MALONDIALDEHÍDO SÉRICO Y URINARIO EN PACIENTES HIPERTIROIDEOS.** MOIGUER SILVIA, GUERRA Liliana N., RÍOS DE MOLINA Ma del Carmen, KARNER Mirta, BURDMAN José A.

Fundación CIMAE; Hospital Israelita EZRAH; Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Universidad Abierta Interamericana

Recientemente hemos demostrado el beneficio de tratar pacientes hipertiroideos (HT) con una mezcla antioxidantes como adyuvante de la terapéutica convencional. Para dilucidar el mecanismo se determinaron: malondialdehído (MDA) sérico y urinario como indicador de lipoperoxidación, niveles de hormonas tiroideas circulantes y, especies reactivas de larga vida en orina por bioluminiscencia espontánea urinaria (BLUE), en pacientes tratados con antioxidantes. Se estudiaron 43 pacientes hipertiroideos. El nivel de MDA en plasma de los hipertiroideos fue mayor que el de un grupo control sin enfermedad y disminuyó con el tratamiento. (HT: 58.5 ± 6.1 , control: 40.4 ± 2.6 , post-tratamiento: 24.2 ± 6.3 mmol/mg proteína) Existe una correlación directa entre el nivel de MDA plasmático y MDA urinario y ambos decrecen con el tratamiento con antioxidantes (orina: HT 26 ± 14 , post-tratamiento 15 ± 9 mM/mMcreatinina). Se observa una correlación positiva entre los niveles de MDA urinario y los niveles de T3 sérica. En los pacientes tratados se verifica una disminución

del valor de BLEU (HT: 3733+1005, control: 2437+1577, post-tratamiento: 2366+ 1169 cpm/mCreatinina). Sin embargo, los datos sugieren que no se estarían produciendo un nivel importante de especies bioluminiscentes, como los observados en otros mecanismos oxidativos. Concluimos que hay una correlación entre hormona tiroidea y peroxidación lipídica, estando estas moléculas de degradación presentes tanto en plasma como en orina.

509. (931) EFECTO DE SECRECIONES DE ESLENOCITOS TRATADOS CON TESTOSTERONA SOBRE LA ESTEROIDOGÉNESIS DEL OVARIO POLIQUÍSTICO EN RATA OLIVEROS LILIANA, FORNERIS Myriam, AGUADO Luis

En un esquema de integración neuroendocrina a nivel periférico demostramos que las secreciones de esplenocitos (SE) modifican la respuesta esteroideogénica del ovario cuando se secciona el nervio ovárico superior. Ahora estudiamos como las SE afectan la esteroideogénesis del ovario poliquístico (PCO). Ratas de 60 días de edad se inyectaron i.m. con valerato de estradiol (VE-2mg/rata) y los controles (C) con vehículo oleoso. Se sacrificaron 2 meses más tarde. 1x10⁶ esplenocitos de ratas PCO y C se cultivaron en medio RPMI y sus secreciones se usaron para estimular ovarios PCO y de rata intacta en diestro 2 (sin inyección con vehículo o VE) en incubaciones de ovarios (3h, 37°C). Además, esplenocitos controles se trataron con testosterona (T) 10nM por 24 h; con sus secreciones se estimularon ovarios intactos y PCO. Progesterona (P), androstenodiona (A) y estradiol (E) liberadas al medio se dosaron por RIA. Sobre ovarios intactos: las SE PCO aumentaron la liberación de P (p< 0.01) sin cambios en E y A en relación a SE controles; las SE controles tratados con T incrementaron P y A (p<0.001) comparado con SE controles y PCO, sin cambio en E. Sobre ovarios PCO: las SE PCO aumentaron P (p<0.01) y disminuyeron E y A (p<0.005) respecto a SE controles. Las SE controles tratados con T aumentaron P, E y A (p<0.001) en relación a SE controles y PCO. La condición PCO afecta tanto al ovario como al bazo, ya que modifica a las SE así como a la respuesta esteroideogénica del ovario a las mismas.

510. (948) EFECTOS DEL NEUROESTEROIDE ALOPREGNANOLONA (THP) SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL DE LA RATA HEMBRA. TESLER LEONEL, FERNÁNDEZ Mariela, SÁNCHEZ Ana, PONCE Raquel, ARIAS Pablo.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Distintos neuroesteroides modulan de forma positiva (THP, pregnenolona o PREG₁) o negativa (sulfato de PREG) la función del receptor GABA_A, pudiendo, por tanto intervenir en el control de la función reproductiva regulada inhibitoriamente por ese neurotransmisor. Nuestro objetivo fue evaluar los efectos de THP sobre dos fases de la conducta sexual de la rata hembra: la preferencia de pareja y el reflejo de lordosis. Animales y métodos: empleamos ratas Wistar hembras adultas, ovariectomizadas y tratadas con benzoato de estradiol y progesterona a fin de inducir un estro artificial. Evaluamos la conducta sexual mediante una versión modificada del paradigma de preferencia de pareja diseñado por Avistur e Yirmiya y la actividad locomotora por medio de un dispositivo de "open field". Diseño experimental: administramos, a las 12 hs, THP 2 mg/kg (grupo THP1) o 4 mg/kg (grupo THP2), o vehículo oleoso s.c. (grupo control), evaluando motilidad, preferencia sexual y lordosis 4 y 6 horas después. Resultados: las dosis de THP administradas no afectaron la motilidad o la preferencia sexual. En cambio, el reflejo de lordosis se vio significativamente inhibido en el grupo THP2 (p < 0,05). Conclusiones: Los resultados obtenidos confirman el importante papel que juega el GABA en la regulación de la lordosis. Dado que THP fue administrada por vía sistémica, no se puede excluir que haya ejercido su efecto progabaérgico en otros centros de importancia para el control de la conducta sexual.

511. (998) INTERRELACIÓN LEPTINA-RECEPTORES NMDA DE AMINOÁCIDOS EXCITATORIOS EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE LH DURANTE LA MADURACIÓN SEXUAL EN

RATAS MACHO. CARBONE SILVIA E, SZWARCFARB Berta, RONDINA Dora, PONZO Osvaldo, REYNOSO Roxana, RIMOLDI Guillermo, SCACCHI Pablo, MOGUILLEVSKY Jaime.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Durante la maduración sexual existen modificaciones en la sensibilidad del eje hipotalámico-hipofisario a leptina (L), que estarían relacionadas con cambios cuali y cuantitativos en los neurotransmisores y receptores involucrados en su regulación. El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de leptina (30 mg/kg i.p., 90 min. antes del sacrificio) sobre los niveles plasmáticos de LH (ng/ml, RIA) en ratas macho pre (7 días) y peripúberes (30 días) controles (C) y tratadas con NMDA (30 mg/kg i.p.) y MK-801 (0.3 mg/kg i.p.), agonista y antagonista, respectivamente, de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) del sistema de aminoácidos excitatorios (n= 10 por grupo). En animales prepúberes: leptina no modificó la secreción de LH ni el efecto estimulante del NMDA C: 10.8 ± 0.76; L: 11.01 ± 0.98; NMDA: 56.88 ± 10.25 (p<0.001); L + NMDA: 60.42 ± 7.8 (p<0.001); MK-801 + L: 8.3 ± 0.62). En ratas peripúberes: leptina aumentó el nivel de LH, potenció el incremento inducido por el NMDA y su efecto estimulante fue antagonizado por el MK-801 (C: 3 ± 0.8; L: 22.4 ± 0.93 (p<0.001); NMDA: 26.6 ± 3.8 (p<0.001); L+NMDA: 37.07 ± 1.2 (p<0.01)); MK-801 + L: 1.82 ± 0.17 (p<0.001). Estos resultados indicarían que existen diferencias ontogénicas en la sensibilidad del eje gonadotrófico a leptina y que los receptores NMDA de aminoácidos excitatorios estarían involucrados en el efecto estimulante de leptina sobre la secreción de LH en ratas macho en el período peripuberal.

512. (1003) DISTRIBUCIÓN DE LA CICLOOXIGENASA CONSTITUTIVA (COX-1) Y SU RELACIÓN CON LA HORMONA LIBERADORA DE HORMONA LUTEINIZANTE (LHRH) EN HIPOTÁLAMO DE RATA. VISSIO PAULA, ²PAZ Dante, CHIOCCHIO Sara, MOHN Claudia, SCORTICATI Camila, FERNÁNDEZ SOLARI Javier, ³MCCANN Samuel, RETTORI Valeria.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos. (CEFyBO-CNICET) ²Dto de Biodiversidad y Biología Experimental (FCEN-UBA). ³Pennington Biomed Res Ctr, Baton Rouge, LA

Se ha demostrado la inmunoreactividad a COX tanto en células gliales como en neuronales de distintas áreas cerebrales de rata. También ha sido demostrado que las prostaglandinas (PGs) desempeñan un rol importante en liberación de LHRH. Por lo cual el objeto del presente trabajo fue examinar la localización de COX-1 y su relación con neuronas y/o terminales que expresan LHRH en el hipotálamo de rata. Utilizando técnicas inmunohistoquímicas se observaron neuronas inmunoreactivas a COX-1 (ir-COX-1) dispersas en áreas dorsales hipotalámicas. El análisis mediante técnicas de doble inmunohistoquímica mostró que COX-1 y LHRH co-localizan en estas neuronas. Además, se pudo identificar una población de células ir-COX-1 en células endomédulas del tercer ventrículo cerebral (3V). Estas células no mostraron co-localización con LHRH. Sin embargo, se evidenció una marcada asociación de fibras inmunoreactivas a LHRH (ir-LHRH) con las células endomédulas ir-COX-1. Además, se observaron fibras inmunoreactivas a COX-1 en las alas laterales de la eminencia media que co-localizaron con ir-LHRH. (Subsidio: PICT 99/ 5-6117 y Beca Ramón Carrillo- Arturo Oñativía, Ministerio de Salud Pública). 1) La co-localización de ir-COX-1 e ir-LHRH en neuronas hipotalámicas, apoyan la participación de PGs en la regulación de la liberación de LHRH. 2) La presencia de ir-COX-1 en la capa de células endomédulas del 3V y la marcada asociación con fibras ir-LHRH sugieren la existencia de una nueva vía regulatoria.

513. (1009) EFECTOS DE LA HIPERLEPTINEMIA SOBRE LA FUNCIÓN HIPOFISO-TESTICULAR EN LA RATA PREPÚBER. NESSRALLA CLÁUDIO D.L., FRANÇA Luiz R., SUESCUN (2,3) María O, GIOVAMBATTISTA (2) Andrés, SPINEDI (2) Eduardo, CALANDRA (3,4) Ricardo S.

Laboratory of Cellular Biology, Federal University of Minas Gerais, Brazil. (2) IMBICE, La Plata.; (3) Facultad de Ciencias Exactas, UNLP; (4) IByME, Capital Federal

Leptina (Lep) influye la función reproductiva y previamente hemos demostrado (SAIC 2001) que la hiperleptinemia endógena (monosodio glutamato, MSG) modifica la esteroidogénesis y la expresión del receptor de Lep en células de Leydig (CL). En este trabajo se estudia el efecto de MSG sobre la función testicular en ratas de 30 días de edad y su correlación con los niveles séricos de LH, FSH, testosterona (T), y Lep. Los resultados indican una disminución ($p < 0,02$) respecto al CTR, en: peso testicular (mg) 230 ± 20 vs. 400 ± 30 ; índice gonadosomático (%) $0,50 \pm 0,04$ vs. $0,71 \pm 0,03$; peso epididimario (mg) $32,3 \pm 1,9$ vs. $46,8 \pm 3,5$; largo de túbulos seminíferos (TS; m) $7,4 \pm 0,4$ vs. $11,2 \pm 0,4$; volumen de TS (μ l) 194 ± 16 vs. 352 ± 21 ; lumen de TS (%) $2,5 \pm 0,2$ vs. $3,4 \pm 0,4$; diámetro de TS (μ m) 182 ± 4 vs. 202 ± 3 ; células germinales (CG) apoptóticas (%) $0,5 \pm 0,1$ vs. nd; número total de células de Sertoli (106) $32 \pm 2,2$ vs. $40,8 \pm 2,1$. Si bien no hubo diferencias en % de TS y CL totales, el volumen de CL fue menor ($p < 0,01$) en MSG ($7,2 \pm 0,6$ vs. $13 \pm 1,8$ ml; 45% aprox.). Los niveles hormonales (MSG vs. control; $p < 0,05$) muestran (ng/ml): LH $0,15 \pm 0,02$ vs. $0,31 \pm 0,07$; FSH $2,13 \pm 0,21$ vs. $4,96 \pm 0,13$; T $1,79 \pm 0,11$ vs. $2,73 \pm 0,36$; y Lep $2,81 \pm 0,58$ vs. $0,82 \pm 0,12$. Demostramos que la hiperleptinemia altera el desarrollo testicular, disminuyendo CS y, probablemente, tanto la proliferación de CL como el desarrollo de CG debido a una alteración del eje gonadal. (Beca Carrillo-Oñativia # 782)

514. (1044) ACCIÓN "IN VITRO" DE LEPTINA SOBRE GN-RH Y SISTEMA GABAÉRGICO. REYNOSO ROXANA MARÍA, CARBONE Silvia, SZWARCFARB Berta, CERRUTI Silvana, PONZO Osvaldo, RONDINA Dora, SCACCHI Pablo, MOGUILVSKY Jaime.

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Leptina (L) estimula "in vivo" e "in vitro" la liberación de Gn-RH en ratas adultas. Para conocer su efecto "in vitro" durante el desarrollo puberal, se realizó una curva dosis-respuesta, con leptina 10-((9)), 10-((11)) y 10-((13)) M incubando fragmentos hipotalámicos ($n=8-10$) de ratas hembra pre (15 días) y peripúberes (30 días). Se midió la liberación de Gn-RH (pg/ml, RIA) y ácido gamma aminobutírico (GABA) (pmoles/100 μ l medio, HPLC). Leptina 10-((9)) M no modificó la liberación de Gn-RH en ninguna de las edades estudiadas (15 días: C: $4,9 \pm 0,13$ vs L: $5,2 \pm 1$; 30 días: C: $5,07 \pm 0,2$ vs L: $5,1 \pm 0,3$). La dosis 10-((11)) M no modificó Gn-RH en ratas prepúberes (C: $4,9 \pm 0,13$ vs L: $5,2 \pm 0,6$), lo aumentó significativamente ($p < 0,01$) en ratas peripúberes (C: $5,07 \pm 0,2$ vs L: $7,1 \pm 0,78$). En cambio 10-((13)) M estimuló significativamente ($p < 0,01$) la liberación de Gn-RH en ambas edades (15 días: C: $4,9 \pm 1,0$ vs L: $7,7 \pm 0,42$; 30 días: C: $5,07 \pm 0,2$ vs. L: $7,4 \pm 0,3$). Se utilizó esta dosis para evaluar la liberación hipotalámica de GABA, observándose un incremento significativo ($p < 0,01$) en ratas prepúberes (C: 634 ± 19 vs L: 730 ± 23) y una disminución ($p < 0,01$) en peripúberes (C: 776 ± 19 vs L: 630 ± 18). Estos resultados podrían sugerir: a) que la liberación "in vitro" de Gn-RH por leptina en ratas hembra durante la maduración sexual es dosis dependiente; b) que el efecto estimulante podría relacionarse con los cambios cuali y cuantitativos del sistema GABAérgico.

515. (1127) ANDRÓGENOS EN PRÓSTATA DE RATA: EFECTO DEL ION CADMIO. ALVAREZ SILVINA, VARAS Silvia, OJEDA Marta, JAHN* Graciela, GIMENEZ Sofía.

Bioquímica Molecular- UNSL *IMBECU- CRICyT-MENDOZA

El Cadmio es un contaminante ambiental asociado a una mayor incidencia de cáncer de próstata; glándula controlada por los andrógenos. El objetivo fue determinar el efecto de la intoxicación crónica con Cd sobre los niveles de testosterona y la concentración de los receptores de andrógenos (AR) en próstatas de ratas. Ratas macho Wistar recién destetadas fueron separadas en

dos grupos: Control (Co) y Cadmio (Cd). Al grupo Cd se le administró el Cd en agua en una concentración de 100 ppm durante 3 meses, las Co recibieron agua potable. Se determinaron en suero los niveles de Testosterona mediante kit de reacción. La concentración de receptores se cuantificó midiendo la unión de MethylTRINOLONE [17 α - METHYL-3H] a los receptores citosólicos de próstata. Se aisló RNA utilizando Trizol y se realizó RT-PCR semicuantitativa para detectar los receptores de andrógenos utilizando L-19 como control interno. Se observó un aumento en la concentración de testosterona sérica en el grupo Cd (Cd (ng/ml): $3,37 \pm 0,42$; Co: $2,24 \pm 0,4$; $p < 0,05$) y un incremento en la concentración de los receptores (Cd (fmol/mg proteína): $49,86 \pm 7,9$; Co: $23,29 \pm 4,88$; $p < 0,05$). Se observó una menor expresión de los genes codificantes de AR (Cd: $0,94 \pm 0,08$; Co: $0,38 \pm 0,1$, $p < 0,05$). Se concluye que el Cd podría estar estimulando la síntesis de testosterona, por lo que se incrementaría la unión específica a los receptores, ejerciendo un control negativo sobre la expresión génica de los mismos.

516. (1141) LA LEPTINA NO MODIFICA LA ESTEROIDOGÉNESIS TESTICULAR IN VITRO EN ANIMALES PREPÚBERES NORMO E HIPERLEPTINÉMICOS. GIOVAMBATTISTA ANDRÉS, SUESCUN^{1,2} María O, SPINEDI Eduardo, CALANDRA^{2,3} Ricardo S.

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular². Facultad de Ciencias Exactas, UNLP³ Instituto de Biología y Medicina Experimental

Es conocido que el tratamiento neonatal con monosodio glutamato (MSG) genera diversas alteraciones endócrinas y metabólicas en ratas adultas, como hipogonadismo e hiperleptinemia, entre otras. En el presente estudio se investigó el efecto de la leptina murina in vitro sobre la liberación basal y post-hCG de testosterona (T) en ratas Sprague-Dawley controles (C) y MSG de 30 días de edad. Células de Leydig purificadas (105 cel./ml de medio) de ambos grupos fueron incubadas in vitro durante 3 horas en condiciones metabólicas. Al final del tiempo de la incubación se evaluó la T liberada al medio por RIA específico. Los experimentos mostraron que las células de Leydig de animales MSG presentan una menor liberación de T espontánea y post estímulo con hCG (0,1-10 ng/ml) (C, Basal: $0,32 \pm 0,01$; vs. MSG: $0,21 \pm 0,01$ y post estímulo máximo con hCG: C, $1,2 \pm 0,05$ vs. MSG, $0,9 \pm 0,04$ ng/ml; $p < 0,05$). Efectos similares se observaron con dosis submáximas del estímulo. Por otra parte, la leptina in vitro (16 y 160 ng/ml) no modificó la secreción de T basal y estimulada en ninguno de los grupos estudiados. Concluimos que: a) contrariamente a lo observado en estudios previos (SAIC 2001) en animales normales adultos, la leptina exógena no inhibió la función de la célula de Leydig y b) coincidentemente con lo encontrado en animales adultos MSG, la disminución de la función esteroidogénica y la refractariedad a la leptina testicular se observan a los 30 días de edad. (Beca Carrillo-Oñativia #782)

FARMACOLOGÍA I

517. (567) CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS CON FLÚOR LIGADO, EN LA MATRIZ OSEA DE RATAS TRATADAS CON MONOFLUORFOSFATO (MFP). PERA LAURA, BRUN Lucas, RIGALLI Alfredo, PUCHE Rodolfo.

Facultad de Medicina, Laboratorio de Biología Osea, U. N. de Rosario

El objetivo de este trabajo fue identificar las proteínas con flúor ligado, presentes en la matriz ósea, que explican la mayor biodisponibilidad de flúor del MFP y consecuencia de la unión de MFP a la alfa-2-macroglobulina (A2M) sérica. Ratas hembra, IIM/FcM "m", de 21 días, recibieron diariamente por sonda gástrica durante un mes: A: 80 μ mol MFP ($n=8$), B: 80 μ mol NaF ($n=8$). Se sacrificaron cuatro ratas de cada grupo a los 30 días y las restantes se mantuvieron un mes más sin tratamiento. Se midió la fluoremia y se extrajeron los fémures de las ratas sacrificadas a los 30 y 60 días. Se obtuvieron los extractos proteicos de la

matriz ósea con los que se realizó cromatografía sobre Sephadex G50 e inmunodetección de A2M. En los extractos óseos de ratas del grupo A tratadas durante 30 días se identificaron proteínas con flúor ligado de PM 15-60 KDa. Esta fracción no se detectó en el grupo B. Al suspender el tratamiento, la fluoremia del grupo A no difirió de los controles pero aumentó en el grupo B. La inmunodetección en el grupo A mostró a los 30 días, 3 bandas proteicas. A los 60 días la banda de mayor peso molecular disminuyó, aumentando las de menor peso molecular. La mayor biodisponibilidad de flúor del MFP se debería a la incorporación del complejo A2M-MFP a la matriz ósea y su posterior degradación a péptidos y fluoruro. La producción de concentraciones locales de fluoruro, eficaces como mitógeno de los osteoblastos, inducirían la síntesis de tejido óseo.

518. (576) COMPENSACION RENAL EN LA DEPURACION DE ANIONES ORGANICOS EXCRETADOS PRINCIPALMENTE POR VIA BILIAR EN RATAS CON COLESTASIS EXTRAHEPATICA.
BRANDONI ANABEL, QUAGLIA Nora, TORRES Adriana Monica.

Farmacología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. CONICET.

Estudios previos demostraron modificaciones en la depuración sistémica de paraaminohipurato (anión orgánico eliminado por vía renal) en ratas con colestasis extrahepática. El objetivo de este trabajo fue evaluar la depuración de bromosulfotaleína (BSF, anión orgánico excretado principalmente por el hígado) en presencia de esta patología. La colestasis se produjo en ratas Wistar macho adultas por ligadura del conducto biliar durante 21 horas (L, n=8). También se trabajó con un grupo de ratas sham (S, n=7). Se determinaron: bilirrubina total y directa (BT y BD, mg/l), abundancia de la proteína transportadora de aniones orgánicos (OAT1, %) en homogenatos de corteza renal, depuración sistémica de BSF (CIBSF, ml/min/100g p.c.) y cantidad de BSF excretada en orina durante 40 minutos (BSFo, µg) luego de una dosis única de BSF (10 mg/kg p.c., i.v.). Resultados (*P<0.05): BT: S = 5.3 ± 0.4, L = 44 ± 2*; BD: S = 2.30 ± 0.15, L = 34 ± 1*; OAT1: S = 100 ± 6, L = 132 ± 7*; CIBSF: S = 0.809 ± 0.081, L = 0.188 ± 0.027*; BSFo: S = 1.92 ± 0.34, L = 32.40 ± 12.93*. Las ratas con colestasis extrahepática mostraron una disminución significativa en la depuración sistémica de BSF y un incremento en la excreción urinaria del anión. La mayor capacidad renal para eliminar aniones orgánicos, la cual estaría mediada por el aumento observado en la expresión de OAT1, indicaría una compensación renal frente al daño hepático existente.

519. (613) EFECTOS "IN VIVO" DE BACLOFEN SOBRE PARÁMETROS DE FUNCIÓN RENAL. DONATO VERÓNICA, GARCÍA Verónica, TRUMPER Laura, COUX Gabriela, ELÍAS Mónica, MONASTEROLO Liliana.

Farmacología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. CONICET. CIUNR.

En nuestro laboratorio se obtuvieron resultados que indican que el agonista GABA_B (BAC), provoca un aumento de la presión de perfusión y de las excreciones fraccionales de agua y sodio en riñón aislado y perfundido. En este trabajo se planteó evaluar la función renal "in vivo" en ratas controles (C, n=5) y tratadas con BAC 0.1 (n=5), 1 (n=5) y 10 (BAC₁₀, n=5) mg/kg, s.c.. Luego de la inyección con vehículo o BAC se ubicaron los animales en jaulas metabólicas, se recogió orina durante 16 horas y se obtuvieron muestras de sangre. Se observó un aumento en los niveles de glucosa en plasma (C=1.21±0.04, BAC₁₀=1.34±0.03 g/l; p<0.05), un incremento en el volumen minuto de orina (C=1.63±0.25, BAC₁₀=4.26±0.43 µl/min.100g; p<0.01), en la excreción fraccional de agua (C=0.14±0.02, BAC₁₀=0.32±0.06 %; p<0.05) y sodio (C=0.16±0.03, BAC₁₀=0.29±0.04 %; p<0.05) y en el clearance osmolar (C=5.82±0.39, BAC₁₀=9.12±0.14 µl/min.100g; p<0.01), con disminución en la relación Oosm/Posm (C=3.96±0.71; BAC₁₀=2.23±0.21; p<0.05). El clearance de creatinina no se modificó con los tratamientos. Estos experimentos corroboran el efecto diurético y natriurético de baclofen obser-

vados en riñón aislado. En el presente modelo se pone de manifiesto una disminución en la capacidad de concentrar la orina, con aumento en el clearance osmolar, señalando al asa ascendente de Henle como un probable sitio de acción para el baclofen.

520. (690) EFECTOS DE INSTILACIÓN INTRATRAQUEAL EN PULMÓN DE RATÓN DE MATERIA PARTICULADA (PM) DE ORIGEN INDUSTRIAL Y URBANO. O'CONNOR SILVIA EVANGELINA, DICK Colin, BOYKIN Elizabeth, DANIELS Mary, MIYAGUSUKU Marcela, DAWIDOWSKI Laura, GOMEZ Dario, GILMOUR Ian, MOLINARI Beatriz.

Comisión Nacional de Energía Atómica, (CNEA). Argentina Environmental Protection Agency (EPA). USA

Existe una estrecha relación entre altos niveles de mortalidad y morbilidad humanas con el aumento de los niveles de PM en el aire. Se evaluaron los efectos tóxicos de PM a nivel pulmonar. Se utilizaron partículas de coque (C1,C2) provenientes de Ensenada (Bs. As) y PM((2.5)) del CAC. Ratones CD1 fueron instilados intratraquealmente con suspensiones de partículas. Luego de 24 horas, se realizó un lavado broncoalveolar (BAL) y se observó un aumento significativo (p<0.001) en el porcentaje de neutrófilos presentes en los grupos tratados: 49.8 ± 17.3, 75.1 ± 5.2 and 59.8 ± 6.3 para PM ((2.5)) CAC, C1 y C2 y (controles: 7.1 ± 3.1). C1 y C2 indujeron un aumento significativo de NAG (p<0.05): 2.48 ± 0.24 3.1 ± 0.2 U/l respectivamente (controles: 1.1 ± 0.14 U/L). Cultivos de macrófagos se expusieron a diferentes concentraciones de partículas durante 24 horas y se determinaron marcadores bioquímicos y funcionales. Se detectaron una disminución significativa (p > 0.05) en los porcentajes de fagocitosis (45.4 ± 7.16 y 36.8 ± 5.8 para C1 y C2 (control: 75.2 ± 5.6) y de stress oxidativo (p > 0.05) : 34.01 ± 9.2 y 47.8 ± 10.3 para C1 y C2 (control: 71.9 ± 2.5). Las partículas testeadas in vivo son capaces de inducir respuestas inflamatorias a nivel pulmonar independientemente de su origen y composición química. Los estudios in vitro revelan que la exposición de macrófagos a estas partículas disminuye sus funciones relacionadas con la defensa del huésped. (Este resumen no expresa la política de la EPA).

521. (717) FRACCIÓN METANOLICA DE LIGARIA CUNEIFOLIA (LC): ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES HEMORREOLÓGICAS Y EXCRECIÓN BILIAR EN RATAS. FERRERO MARÍANA, DOMINIGHINI Alicia¹, CROSETTI Diego¹, ALVAREZ Luján³, RONCO Teresa³, WAGNER Marcelo², GURNI Alberto², CARNOVALE Cristina³, LUQUITA Alejandra¹.

Catedra Biofísica. Fac. Cs. Médicas.¹ Farmacobotánica, Farm y Bioq-UBA³ Fisiología, Fac. Cs. Bioq. y Farm-UNR-CONICET.² CIURN.

Objetivo: analizar el efecto de fracción metanólica del extracto crudo Lc (FMLc) sobre las propiedades hemorreológicas y excreción biliar (EB). Métodos: Ratas Controles (C) (n=6) inyectadas ip con Fisiológica y tratadas (n=5 c/u) con 1-vinil-2-pirrolidona (PVP: vehiculizante) y con FMLc, inyectadas ip cada 24 hs 3 días con PVP: 0,47(1) y 12,5 mg%PC(2) o FMLc: 0,95(3) y 23 mg%PC(4). Resultados: Viscosidad sanguínea: C: 4,93 ± 0,36; PVP 1: 7,01 ± 0,01*; FMLc3: 7,25 ± 0,01*; PVP2: 6,68 ± 0,40*; FMLc4: 7,79 ± 0,45*. Índice de rigidez: C: 6,13 ± 0,60; PVP1: 11,25 ± 0,26*; FMLc2: 17,75 ± 2,80*; PVP3: 11,07 ± 0,67*; FMLc4: 29,88 ± 4,25*. Forma eritrocitaria: C: -0,49 ± 0,05; PVP1: -0,55 ± 0,09; FMLc3: -1,53 ± 0,08*; PVP2: -1,09 ± 0,08*; FMLc4: -1,48 ± 0,06*; Descenso de Colesterol(Co) plasmático: PVP1: 11,18 ± 1,71; FMLc3: 33,50 ± 7,22*; PVP2: 17,08 ± 4,45*; FMLc4: 33,02 ± 2,53*. EB Sales Biliares: C: 4,24 ± 4,9; PVP1: 67,6 ± 0,2*; FMLc3: 81,3 ± 2,2*; PVP2: 73,4 ± 8,9*; FMLc4: 130 ± 12,5*. EBCo: C: 0,79 ± 0,05; PVP1: 1,82 ± 0,08*; FMLc3: 1,91 ± 0,15*; PVP2: 1,38 ± 0,09*; FMLc4: 1,28 ± 0,14*. Flujo biliar: C: 1,76 ± 0,07; PVP1: 2,16 ± 0,07*; FMLc3: 2,07 ± 0,07*; PVP2: 2,37 ± 0,10*; FMLc4: 3,70 ± 0,38* (*p<0,05 vs. C). El cambio de forma y rigidización eritrocitaria producen aumento de viscosidad sanguínea por interacción de FMLc y PVP con la membrana celular. El descenso de Co plasmático es por aumento de EBCo y Sales Biliares, que aumenta el Flujo Biliar.

522. (752) BIODISTRIBUCIÓN Y FARMACOCINÉTICA DE 2-NITRO-IMIDAZOLES ENCAPSULADOS EN LIPOSOMAS: COMO DIRIGIR EL DESTINO DE UN FÁRMACO DISEÑANDO EL VEHÍCULO SUPRAMOLECULAR APROPIADO. MORILLA MARÍA JOSE, BENAVIDEZ Pablo, LOPEZ Maximiliano, PRIETO Jimena, MONTANARI Jorge, ROMERO Eder.

Universidad Nacional de Quilmes

Los principales problemas que atañen al uso farmacológico de 2-nitroimidazoles radican en que a) drogas muy hidrofóbicas y lipofílicas (benznidazol:BNZ) se biodistribuyen en todos los tejidos accesibles a la circulación y no poseen ninguna selectividad y b) drogas hidrofílicas (etanidazol:ETZ) tienen dificultades para ingresar al interior celular y se degradan en circulación. Para hacer selectiva la llegada masiva de estas drogas intactas a órganos como el hígado, diseñamos liposomas (vesículas microscópicas diseñadas ad-hoc para cada necesidad estructural) para ser usados como sistemas de liberación controlada tanto de BNZ y de ETZ. El BNZ se incorporó a vesículas multilamelares (MLV: a una relación 0.8 mg BNZ/100 mg lípidos totales) mientras que el ETZ se encapsuló en vesículas unilamelares grandes extruídas (LUVET) congeladas y descongeladas (LUVETCD: a una relación de 20 mg ETZ/100 mg lípidos totales). Ratas Wistar (170 g) fueron inyectadas iv. en diferentes dosis de MLV-BNZ y LUVETCD-ETZ, para determinar luego farmacocinética y biodistribución. Los resultados indicaron: a) descarga masiva de MLV-BNZ al hígado en una proporción 12 veces mayor con respecto a BNZ libre, sin acceso resto de los órganos y b) descarga masiva de LUVETCD-ETZ 100 veces mayor que ETZ libre en el tejido hepático, sin acceso al resto de los órganos. Usando sistemas de liberación controlada de fármacos, es posible re direccionar drogas sin necesidad de síntesis químicas.

523. (918) ACCION DE DISTINTOS EXTRACTOS DE PTEROCAULON POLYSTACHIUM SOBRE LA PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE CELULAS LEUCEMICAS HUMANAS. RIVEIRO EUGENIA, FERNANDEZ Natalia, MONCZOR Federico, DE BENEDETTI Silvia*, ROSSI Javier*, BALDI Alberto, SHAYO Carina, DAVIO Carlos.

*Laboratorio de Radioisótopos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME). *Cátedra de Farmacognosia. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP.*

La utilización de agentes inductores de diferenciación es una opción promisoriosa en el tratamiento de leucemias. La búsqueda de moléculas a partir de plantas medicinales constituye un camino en el descubrimiento de nuevas drogas en el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos. Existen referencias sobre la actividad diferenciante y antiproliferativa de las cumarinas simples. Por este motivo, encaramos el estudio de extractos, fracciones y cumarinas novedosas de *Pterocaulon polystachium* sobre la línea promonocítica U937. Se evaluó la actividad diferenciante de los extractos, fracciones y compuestos puros, mediante la expresión de CD88 (receptor a C5a), determinando $[Ca^{2+}]_i$ y quimiotaxis frente al estímulo con C5a. Por otra parte, por conteo celular evaluamos inhibición de proliferación. Los extractos con mayor contenido de cumarinas y las cumarinas C-1 y C-2 regularon la expresión de CD88 (tabla, * $p < 0.05$). Las cumarinas C-1 y C-2 mostraron inhibición de la proliferación respecto del control ($p < 0.05$).

Tratamientos	Control	dbAMPc 0.4 mM	Ext. éter de petróleo	Fracción 1
Quimiotaxis (Nº cel.)	3760±160	17820±800*	12170±50*	8300±220*
$[Ca^{2+}]_i$ (trat/dbAMPc)	0	1	0.87	0.82

Tratamientos	C-1 1,9 µg/ml	C-1 0,19 µg/ml	C-2 0,1 µg/ml
Quimiotaxis (Nº cel.)	13840±1840*	9440±240*	10520±520*
$[Ca^{2+}]_i$ (trat/dbAMPc)	0.85	0.70	0.85

Los resultados permiten atribuir a los extractos de *P. polystachium* una actividad antiproliferativa y diferenciante, siendo las cumarinas C-1 y C-2 responsables de dichas actividades.

524. (991) EFECTO DE UNA O-NAFTOQUINONA ANTITUMORAL SOBRE LA ACTIVIDAD ATPASA MITOCONDRIAL, EN HÍGADO DE RATA. CAMICIA FEDERICO, DE WITTE Natacha Viviana, DUBIN Marta, STOPPANI Andres Oscar Manuel.

Centro de Investigaciones Bioenergéticas (CONICET), Facultad de Medicina (UBA)

La β -lapachona (β L), o-naftoquinona, es tripanocida e inhibe la topoisomerasa I en células humanas y la expresión de los genes dirigida por HIV-1 LTR (Li y col. Cancer Res. 55: 3712, 1995). La CG 9-442 (CG), análoga de la β L, se sintetizó como posible agente antitumoral (Schaffner-Sabba y col., J. Med. Chem. 27:990, 1984). La CG inhibió la cadena respiratoria y produjo un efecto desacoplante en mitocondrias de hígado de rata (de Witte y col., SAIB 1998). Se investigó el efecto de la CG, sobre la ATPasa mitocondrial hepática. Se midió, en partículas submitocondriales (PS): a) la actividad ATPasa y la producción de anión superóxido, por espectrofotometría, y b) el espectro EPR del radical semiquinona de la CG (CG(.)). Se observó inhibición de la actividad ATPasa en PS preincubadas a 30°C, 15 min, con: 1) CG 50 μ M, 31% ($p < 0,01$, $n=5$); 2) 1 + NADH, 37% ($p < 0,01$, $n=5$); 3) 2 + Fe((2+)) 38% ($p < 0,01$, $n=5$); o 4) 3 + antimicina, 25% ($p < 0,01$, $n=4$); o 20 min con Ascorbato-Cu((2+)) (ACu), 82% ($p < 0,01$, $n=5$). La CG produjo: a) anión superóxido a partir de 5 μ M ($p < 0,05$, $n=4$); y b) CG(.) en PS suplementadas con NADH, en anaerobiosis. Dado que la inhibición de la actividad ATPasa no diferió en presencia o ausencia del ciclo redox de la CG, proponemos inhibición directa de la CG y no mediada por radicales libres. La inactivación de la actividad ATPasa por ACu, sugeriría la producción de radicales libres generados por el mismo, en un sitio más cercano a la ATPasa que los producidos por la CG.

525. (1011) LA PROLIFERACIÓN, LA ANGIOGENESIS Y EL CRECIMIENTO TUMORAL SON MODULADOS POR EL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO PARASIMPÁTICO. ESPAÑOL ALEJANDRO JAVIER, DAVEL Lilia, JANSIS María Adela, RIBEIRO María, S DE LUSTIG Eugenia, SALES María Elena.

Instituto Angel Roffo. Area Investigación Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

Las líneas de adenocarcinomas mamarios murinos, LM2 y LM3, expresan receptores muscarínicos (RM) a diferencia de la línea de epitelio mamario murino normal (NMuMG). Por ensayos de unión con radioligandos y Western blot demostramos que LM3 expresa los subtipos M[[1]], M[[2]] y M[[3]], LM2 M[[2]] y M[[3]], siendo mayoritaria la expresión M[[2]]. NMuMG no mostró RM. La estimulación con el agonista carbacol (CARB) (10((-7))M) incrementó la proliferación de LM2 y LM3 (CARB: 23,7%±5,8%; LM3: CARB: 33,1%±6,5%) ($n=6$) respecto del basal. En LM2 este efecto fue bloqueado por metoctramina (MET)(10((-5))M). El efecto de CARB potenciado por valina (5x10((-2))M), indometacina (10((-6))M) y por NS 398 (10((-5))M). En LM3 el efecto del CARB se bloqueó por 4-DAMP (10((-5))M), NCDC (10((-5))M) y L-NMMA 10((-4))M). Además el CARB estimuló la angiogenesis inducida por ambas líneas tumorales (d=n((o)) vasos/mm((2)))(LM2: 3,96±0,19; n=4; LM2+CARB: 4,73±0,6; n=6; LM3: 2,96±0,43; n=6; LM3+CARB: 4,82±0,28; n=7). En LM2 la atropina (AT) (10((-5))M), MET (10((-5))M) y N((w))-hidroxi-L-arginina (10((-4))M) bloquearon la estimulación. En células LM3: AT, MET, NCDC y L-NMMA bloquearon el efecto de CARB. El agonista incrementó significativamente el crecimiento tumoral "in vivo" por activación del subtipo M[[3]] en ambas líneas. Concluimos que el SNAp a través de la activación muscarínica regula tanto la proliferación in vitro como la angiogenesis y el crecimiento in vivo en ambas líneas celulares.

526. (1021) REGULACION FARMACOLOGICA DE LA OXIDO NITRICO SINTASA MITOCONDRIAL POR ENALAPRIL. ZAOBORNYY TAMARA, ALVAREZ Silvia, VALDEZ Laura, BOVERIS Alejandro

, NAVARRO Ana, BOVERIS Alberto.

Fisicoquímica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

El tratamiento con enalapril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina) produce un aumento en la producción de óxido nítrico (NO). Las óxido nítrico sintasas (NOS) catalizan la producción fisiológica de NO. Se ha identificado la presencia de una NOS asociada a la membrana mitocondrial interna (mtNOS). La generación mitocondrial de NO puede evaluarse: (a) determinando directamente su producción a través de métodos espectroscópicos (espectrofotométricamente con MbO₂ o HbO₂), o por EPR) e (b) indirectamente, midiendo la variación en el consumo de oxígeno o en la producción de H₂O₂. Además, modificaciones en la expresión de la mtNOS pueden ser evidenciadas mediante estudios inmunológicos, como el Western blot. Se estudió el efecto del enalapril (30 mg/kg rata/día, i.p., 15 días) sobre la actividad de la mtNOS en mitocondrias de hígado y riñón. Se observó un aumento 6-10 veces en la velocidad de producción de NO por mitocondrias de riñón, con una señal de NO detectable por EPR (no se observó señal alguna con las muestras control). Este hecho se correlacionó con un efecto inhibitorio (22-35%) sobre la respiración mitocondrial, un aumento en la expresión de la mtNOS (30%) y un incremento en la producción de H₂O₂ (40%). Este estudio provee evidencia de que existe una regulación funcional de la mtNOS y describe el efecto del enalapril sobre el metabolismo mitocondrial de NO.

- 527. (1146) INTERACCION ENTRE COX Y NOS: INHIBICION DE LA SINTESIS DE NO POR PGF2A Y PGD2 EN EL UTERO DE RATA ESTROGENIZADA.** CELLA MAXIMILIANO, RIBEIRO María, FARINA Mariana, FRANCHI Ana.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

Introducción. El óxido nítrico (NO) es un mediador capaz de interactuar con la ciclooxigenasa (COX), enzima que cataliza la formación de prostaglandinas (PGs). El NO se sintetiza por la acción de la NOSintasa (NOS). Se ha visto que las PGs y el NO interactúan en diversos procesos reproductivos. Objetivo. Estudiar si el NO y las PGs modulan las vías de la COX y la NOS en el útero de rata estrogenizada. Materiales y Métodos. Se cuantificó la síntesis de PGs (radioconversión, %cpm/100mg ph) y de NO (Bredt&Snyder, pmoles citrulina/100mg/15min). Resultados. Un dador de NO, Nitroprusiato 300 y 600 uM, aumentó la síntesis de PGF2a de manera dosis-dependiente (5±1 vs 8±1 y 12±1), mientras que el aumento de la PGE2 fue independiente de la dosis (6±1 vs 13±1 y 14±1). La administración in vivo de LPS 5mg/Kg incrementó la síntesis de NO (2,3±0,1 vs 3,7±0,2) y la de PGF2a (2,0±0,3 vs 4,0±0,7) y PGE2 (4,0±0,5 vs 8±1). La administración de LPS+aminoguanidina 8 mg/kg (inhibidor de la NOS) revirtió el aumento de PGE2 (8±1 vs 4±1) y de PGF2a (4,0±0,3 vs 2,0±0,4). La administración de LPS+indometacina 10 mg/kg (inhibidor de la COX) potenció el efecto del LPS sobre la producción de NO (3,7±0,2 vs 8±1). La incubación in vitro con PGD2 y PGF2a 10(-10)M revirtió el aumento de NO debido a la administración in vivo de LPS (7±1 vs 4,0±0,3 y 4,0±0,4 vs 2,6±0,2). Conclusión. En este modelo, la vía de la COX estaría estimulada por el NO, mientras que las PGs regularían negativamente la vía de la NOS.

- 528. (1166) DEHIDROLEUCODINA INHIBE LA DEGRANULACIÓN DE MASTOCITOS PERITONEALES INDUCIDA POR EL COMPUESTO 48/80.** PENISSI ALICIA BEATRIZ, DE ROSAS Juan Carlos, FOGAL Teresa, MARÍANI María Laura, NICOVANI Sandra, RUDOLPH Isolde, PIEZZI Ramón.

IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo

Dehidroleucodina (DhL), lactona aislada de *Artemisia douglasiana* Besser, previene la formación de lesiones gastrointestinales inducida por agentes ulcerogénicos. Dado que la estabilización de mastocitos (MC) es uno de los mecanismos

por el cual algunas drogas protegen al tracto gastrointestinal de la injuria, este trabajo estudia el efecto de DhL sobre la degranulación de MC inducida por el compuesto 48/80. Se usaron ratas machos adultas SD (n=20). Los MC fueron aislados por lavado peritoneal, purificados en Percoll e incubados con: PBS ó 48/80 ó DhL+48/80. Se realizaron curvas dosis-respuesta. La serotonina (5-HT) liberada por los MC y la remanente se cuantificó por HPLC-ECD. Expresión de los resultados: % de liberación de 5-HT. Tratamiento estadístico: ANOVA-1/Tukey-Kramer. Se analizó la vitalidad celular con azul tripán y la histoarquitectura por microscopía óptica y electrónica de transmisión y de barrido. DhL inhibió en forma dosis-dependiente la liberación de 5-HT inducida por 48/80 (basal: 5.67±0.6; 48/80: 36.27±0.4; DhL(40uM)+48/80: 11.21±0.12). Vitalidad celular: 95%. Los MC basales mostraron micropliegues superficiales y gránulos densos. Los MC 48/80 presentaron gránulos edematizados con menor densidad electrónica, canales de exocitosis y abundante actividad granular de superficie. La morfología de los MC DhL+48/80 fue similar a la de los controles. DhL inhibe la degranulación de MC inducida por 48/80. DhL actuaría como un estabilizador de MC a nivel entérico.

INFECTOLOGÍA II

- 529. (507) ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD IN VITRO DEL ETANIDAZOL COMO POTENCIAL AGENTE TRIPANOCIDA.** PETRAY PATRICIA, MORILLA María^a, CORRAL Ricardo, ROMERO Eder^o.

Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez ° Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires.

La enfermedad de Chagas constituye un problema terapéutico, ya que el tratamiento corriente es dependiente de dos drogas: el nitrofurano nifurtimox (Lampit) cuya producción ha sido discontinuada, y el nitroimidazol benznidazol (Radanil) que produce frecuentes efectos tóxicos colaterales. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la actividad tripanocida in vitro de otro derivado nitroimidazólico, el etanidazol (ETZ; fármaco adyuvante a la radioterapia en el tratamiento del cancer), empleando benznidazol (BZ) como droga de referencia. Con este propósito, tripomastigotes de la cepa CA1 de *T. cruzi* fueron incubados en presencia o ausencia de las drogas (ETZ: 14,6-1200 µM; BZ: 1,46-120 µM) en RPMI+10% SFB. Al cabo de 24 h a 37°C se determinó el nº de tripomastigotes móviles. La concentración de droga que resultó en un 50% de inhibición (CI₅₀) fue 170 µM para ETZ y 6,6 µM para BZ. Estos resultados revelan que el ETZ tiene un efecto directo sobre el parásito y por tratarse de una droga cuyo uso ya ha sido introducido en humanos, creemos oportuno continuar con el estudio de su potencial terapéutico en la enfermedad de Chagas.

- 530. (517) TIORIDAZINA: UNA POSIBILIDAD PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS.** LO PRESTI SILVINA, RIVAROLA Hector, BUSTAMANTE Juan, ENDERS Julio, FERNANDEZ Alicia, PAGLINI Patricia.

Cátedra de Física Biomédica Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Univ. Nac. de Cba Santa Rosa 1085, 5000

Tioridazina es una fenotiazina con efecto letal sobre tripomastigotes y epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* y un potente inhibidor de tripanotona reductasa, enzima del parásito esencial para su vida. En el presente trabajo se estudió el efecto de Tioridazina en ratones infectados con una cepa de *T. cruzi* perteneciente al zimodema 12. Los ratones fueron divididos en tres grupos: I: infectados, sin tratamiento; II: infectados y tratados con 80 mg. de Tioridazina / Kg. / día/ 3 días; y III: no infectados. Se estudió el estadio agudo (50 días post-inoculación d.p.i.), indeterminado (90 d.p.i.) y crónico (135 d.p.i.), determinando parasitemia, sobrevida, electrocardiografía, histopatología, densidad y afinidad de receptores β' cardíacos. El grupo II presentó

: parasitemias menores negativizándose a los 56 dpi ($p < 0,01$); supervivencia del 50% en el estadio crónico, ($p < 0,01$) no encontrándose alteraciones electrocardiográficas ni histopatológicas en dicha fase. La afinidad de receptores β' del grupo II en los tres estadios ($9,44 \pm 0,88$; $19,28 \pm 1,16$; $23,81 \pm 1,64$ nM) estuvo disminuida con respecto al grupo I ($5,71 \pm 0,56$; $6,28 \pm 0,39$; $7,32 \pm 0,19$ nM) ($p < 0,001$) y la densidad aumentó como mecanismo compensador. Tioridazina demostró ser una droga que previno el pasaje de la fase aguda a la crónica de la enfermedad de Chagas experimental y su consiguiente cardiopatía irreversible, convirtiéndose así en un posible agente de tratamiento, sin presentar reacciones adversas aparentes.

- 531. (543) RESPUESTA DE LOS RECEPTORES β -CARDÍACOS EN DIFERENTES DISEÑOS EXPERIMENTALES INFECTADOS CON T. CRUZI.** FERNÁNDEZ ALICIA, FUENTES Fernando, STORERO Luis, BUSTAMANTE Juan, RIVAROLA Héctor, FANTINO Mónica, PAGLINI Patricia, ENDERS Julio.

Cátedra de Física Biomédica Facultad de Ciencias Médicas, U.N.Cba

Siendo la Enfermedad de Chagas una miocardiopatía, el presente trabajo tiene como objetivo mostrar comparativamente el comportamiento de los b-AR en animales infectados con T. cruzi cepa Tulahuen y cepa Z12, así como en procesos de reinfección con ambas cepas. Los valores respectivos de afinidad de los b-AR (Kd en nM) y la densidad (Bmax en fmol/mg x prot) fueron determinados en ratones albinos suizos de 3 meses de edad, los cuales se dividieron en los siguientes grupos: Control (sin infectar) ($3,61 \pm 0,05$; $71,96 \pm 0,36$), infectados con cepa Tulahuen y estudiados en la etapa aguda ($5,63 \pm 0,26$; $78,24 \pm 1,67$), indeterminada ($6,85 \pm 0,2$; $77,28 \pm 0,91$), crónica ($11,2 \pm 0,25$; $53,32 \pm 0,71$) y re infectados a 30 ($11,96 \pm 0,63$; $257,02 \pm 6,24$) y 60 días ($12,69 \pm 0,74$; $208,29 \pm 5,66$). Grupos infectados con cepas Z12 y analizados en la etapa aguda ($5,71 \pm 0,56$; $207,63 \pm 8,15$), Indeterminada ($6,28 \pm 0,39$; $228,12 \pm 6,01$), crónica ($7,32 \pm 0,19$; $184,01 \pm 2,1$) y re infectado ($20,49 \pm 0,93$; $357,68 \pm 8,86$). La afinidad en todos los grupos infectados fueron menores que los controles ($p < 0,01$) y la densidad incrementó ($p < 0,01$), salvo en el período crónico de infección con Tulahuen donde Bmax disminuyó con respecto al control ($p < 0,01$). Evolutivamente hubo una sostenida pérdida de la afinidad de los b-AR con un mecanismo compensador de la densidad que también se expresa en las reinfecciones y que desaparece sólo en la etapa crónica de la infección con Tulahuen.

- 532. (544) EFECTO DE LAS REINFECCIONES CON TRYPANOSOMA CRUZI SOBRE LOS NIVELES DE FIBRINÓGENO PLASMÁTICO.** FANTINO MÓNICA, BUSTAMANTE Juan, DUTTO Pablo, RIVAROLA Héctor, PAGLINI Patricia, ENDERS Julio, FERNÁNDEZ Alicia.

Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

La Enfermedad de Chagas cursa con procesos inflamatorios que comprometen sistemáticamente al tejido endotelial, y esto provocaría un desequilibrio en el balance homeostático. El fibrinógeno representa un factor de riesgo en las cardiopatías, y en vista a la incidencia de trombos murales cardíacos y fenómenos tromboembólicos sistémicos descriptos en la cardiopatía chagásica, el objetivo del presente trabajo fue analizar el comportamiento del fibrinógeno plasmático (FP) frente a la infección con dos cepas distintas de T. cruzi, y en procesos de reinfecciones. Se utilizaron ratones albinos suizos divididos en: Control (sin infectar), infectados con 45 tripomastigotes de T. cruzi y analizados en la etapa aguda (AgT) y re infectados con la cepa Tulahuen (RT), grupos infectados con 500 tripomastigotes con cepa Z12 analizados en la etapa aguda (AgZ12) y re infectados (RZ12). Los valores respectivos de fibrinógeno plasmático (mg/dl) fueron: Control: $283,90$; AgT: $311,62$; RT: $316,38$; AZ12: $233,12$ y RZ12: $348,83$. Los grupos re infectados con ambas cepas mostraron valores de FP superiores a los controles ($p < 0,05$). El valor de FP en el grupo AgT fue similar a los re infectados y mas elevado que

los controles y que el grupo AgZ12 ($p < 0,05$). Se puede concluir que si bien en la etapa aguda la cepa Z12 evidenciaría un menor riesgo trombogénico que la cepa Tulahuen, esto desaparece en los procesos de reinfección donde el riesgo se evidencia con las dos cepas estudiadas.

- 533. (599) LA INMUNOMODULACIÓN CON DOSIS BAJAS DE CYCLOFOSFAMIDA (CY) EXACERBA LA MIOCARDITIS CHAGÁSICA CRÓNICA EXPERIMENTAL EN RATAS.** NAVARRETE SIGNORILE MARCELO, DÁVILA Héctor.

Instituto de Inmunología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario

Introducción: La enfermedad de Chagas es producida por el Trypanosoma cruzi (Tc). Alrededor del 30% de las personas infectadas desarrollan una miocarditis crónica luego de un período de latencia variable. Contamos con un modelo de Chagas experimental en ratas que desarrollan miocarditis e inmunosupresión en la fase crónica, en el que demostramos la capacidad de la Cy a bajas dosis para revertir dicha supresión, sin reactivar la infección. Con el objeto de evaluar el papel de la regulación del sistema inmune en el desarrollo de la miocarditis chagásica crónica, se trabajó en el siguiente modelo experimental. Métodos: Ratas machos línea "I" infectados al destete con 1 millón de Tc. Tratadas con 15 mg/Kg de Cy 2 veces por semana durante 3 semanas a los 90 días post-infección. Histopatología: 1 semana después de la última dosis de Cy. Se estableció un puntaje para evaluar la severidad de las lesiones de los siguientes grupos: controles (Co) n=8; infectados (I) n=8; controles tratados con Cy (Co+Cy) n=7; infectados tratados con Cy (I+Cy) n=8. Resultados: $x \pm es$ del puntaje: Co= $0,5 \pm 0,2$; Co+Cy= $0,4 \pm 0,2$; I= $2 \pm 0,6$; I+Cy= $4,5 \pm 0,6$. Análisis estadístico: Kruskal-Wallis, $p=0,002$. U de Mann-Whitney Grupo I vs. I+Cy $p=0,029$; Co vs. Co+Cy=ns. Conclusión: El incremento en la severidad de las lesiones miocárdicas observada luego de revertir la inmunosupresión, refuerza la teoría sobre el papel patogénico del sistema inmune en la miocarditis chagásica crónica experimental.

- 534. (888) TRATAMIENTO ETIOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA EN AÑATUYA, SANTIAGO DEL ESTERO: PROYECTO "VIVIR SIN CHAGAS" (RESULTADOS PARCIALES).** LEVITUS GABRIELA, SCHIJMAN Alejandro, BURGOS Juan, GRIPPO Vanina, LAFON Sonia, AYALA Vilma, COPPEDE María, HERRERA Verónica, LÓPEZ Crescencia, CONTRERAS Ana, MUJICA Hugo, ELEAN Juan, LEVIN Mariano.

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Grupo Cáritas Diocesana Añatuya

Considerando las recomendaciones de la OMS de ofrecer tratamiento tripanocida a los individuos seropositivos en fase indeterminada para prevenir la aparición de alteraciones cardíacas severas, se propuso: 1) tratar con benznidazol individuos infectados asintomáticos y 2) acompañar su evolución clínica, parasitológica (PCR) y serológica. Los estudios se realizaron antes (T0) y después (T1) del tratamiento y tres (T2), seis (T3), y doce (T4) meses de finalizado el tratamiento. Hasta el momento realizamos el seguimiento serológico de 113 pacientes. Todos mantuvieron invariables los niveles de anticuerpos anti-T.cruzi en T1, pero en un 35% de los casos estos niveles comenzaron a disminuir (aunque aún no seroconvirtieron) en las colectas siguientes. La reactividad de los sueros contra los antígenos recombinantes IF8, JL7 y R13 correlacionaron con la respuesta anti-T. cruzi, indicando que ninguno de estos antígenos podría emplearse como marcador de seroconversión precoz. De 70 casos analizados por PCR, el 43% resultó positivo en T0, de los cuales analizamos 31 longitudinalmente: un 45% negativizó la PCR en T1, un 45% en T2, un 3% en T3 y un 7% permaneció positivo aún en T4. Estos resultados demuestran el efecto del tratamiento sobre la disminución de la carga parasitaria y la utilidad de la técnica de PCR como herramienta para el seguimiento, siempre y cuando la reacción sea positiva al inicio del tratamiento.

- 535. (960) ESTUDIOS DE PCR EN LA INFECCIÓN POR TRYPANOSOMA CRUZI: DETECCIÓN DE PARASITEMIA Y SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO EN DISTINTOS GRUPOS EPIDEMIO-LÓGICOS Y CLÍNICOS.** BURGOS JUAN, LEVITUS Gabriela, ALTCHEH Jaime, BISIO Margarita, MUJICA Hugo, ELEAN Juan, FREILIJ Hector, LEVIN Mariano, SCHIJMAN Alejandro.

Instituto de Investigación en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Grupo Caritas Diocesana Añatuya, Sgo del Estero. Lab de Chagas, Htal R.Gutierrez, Buenos Aires.

Se estudiaron por PCR 189 individuos infectados por T.cruzi (target: kDNA. Sensibilidad: 0.08 eqiv/ml). La PCR fue positiva (+) en 75.6% de 82 niños y 60.9% de 107 adultos. Treinta y cuatro niños tenían Chagas congénito (GC) y 48 Chagas indeterminado de etiología incierta (GI) en áreas endémicas de Argentina (GIA) y Bolivia (GIB). 79.4% GC y 72.9% GI fueron PCR +. La sensibilidad de la PCR fue 100% en GC < 6 meses (N=14) y 65% en mayores (p < .05), reflejando la disminución de la parasitemia hacia la fase indeterminada. En GD, la PCR fue + en 60.9% GIA y 84% GIB. De 87 pacientes > 18 años con Chagas crónico de Añatuya, Sgo del Estero, 54 eran asintomáticos y 33 con cardiopatías. La PCR fue + en 58.8% y 61.3%, respectivamente. De 61 casos tratados con benznidazol y seguidos por serología y PCR durante 2 años posttratamiento observamos: GI < 2 años (N=10):100% de negativización de PCR y serología; GII 3-5 años (N=7):100% de negativización de PCR y 28% serología; GIII 6-17 años (N=13), 92% de negativización de PCR y 0% serología y GIV > 18 años (N=31): 84% negativización de PCR y 0% serología. La PCR resultó 100% sensible en Chagas congénito en < 6 meses. No hubo diferencias entre niños y adultos en fase indeterminada o crónica ni entre asintomáticos y cardiopatas de una misma región endémica. El seguimiento por PCR de pacientes tratados mostró éxito terapéutico en los grupos más jóvenes mientras que el 8% del grupo III y 16% del grupo IV fueron refractarios a la terapia.

- 536. (1135) DIFERENTES LINAJES DE TRYPANOSOMA CRUZI CORRELACIONAN CON LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE UN FACTOR DE VIRULENCIA (TRANS-SIALIDASA) EN EL ESTADIO INVASIVO.** RISSO MARIKENA, GARBARINO Gloria, GONZÁLEZ CAPPÀ Stella maris, CAMPETELLA Oscar, BUSCAGLIA Carlos, LEGUIZAMÓN María Susana, * Los primeros autores contribuyeron igualmente en el trabajo.

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires - Inst. Investigaciones Biotecnológicas, Univ. Nac. Gral. San Martín

La trans-sialidasa (TS) de T.cruzi se relaciona con involución tímica descrita en infección. Transfiere ác. siálico entre glicoconjugados del huésped y del parásito detectándose en sangre en fase aguda. T.cruzi presenta cepas de diferente tropismo, virulencia, morfología, etc. quizás relacionadas con la diversidad clínica. Ratones infectados con RA presentan TS circulante, mueren con timo reducido y sin Acs neutralizantes (AcNt) de TS. Con CA-I no se detecta TS circulante, hay mínimo daño en timo y superan la fase aguda produciendo AcNt. Con marcadores moleculares (región intergénica del miniexón, genes tssa y 24S-a-rRNA) e inmunológicos (TSSA-I y II) se establecieron dos linajes: I (selvático) y II (domiciliario relacionado a infección humana). Para analizar la asociación de estos marcadores con virulencia, se estableció linaje y expresión de TS en dos grupos de cepas. A) alta virulencia: RA, Tul, Q501, Cvd; B) baja virulencia: CA-I, K-98, Ac y Hc. Las cepas A correspondieron al linaje II y las B al I. Se analizó expresión de TS incubando tripomastigotes a 37°C, se midió TS en sobrenadante y pellet. La producción/liberación de TS fue mayor en cepas A correlacionando con involución tímica/muerte, mientras que en B la baja producción/liberación correlaciona con AcNt/cronicidad. La participación de TS en alteraciones tímicas y la correlación de su expresión diferencial en cepas de distinta virulencia/linaje proveería una herramienta para analizar las diversas formas clínicas.

INMUNOLOGÍA XI

- 537. (475) RATONES INMUNIZADOS CON AG163B6/CRUZIPAÍNA PRESENTAN DAÑO HISTOLÓGICO EN MÚSCULO ESQUELÉTICO QUE SERÍA DEPENDIENTE DEL ADYUVANTE UTILIZADO Y DE LA RESPUESTA TH INDUCIDA.** MUÑOZ MARINA CELILIA, CAZORLA Silvia Inés, SARTORI María José, FRANK María Fernanda, FABRO SP, MALCHIODI Emilio Luis.

Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Instituto de Biología Celular. Fac. Cs. Médicas. U.N.C.

Empleando el Ag163B6-cruzipaína y ODN-CpG conferimos protección contra T. cruzi en ratón. Dado que otros comunicaron que cruzipaína con adyuvante de Freund (AdF) inducía Acs a-miosina y daño en músculo, estudiamos si en nuestro modelo obteníamos resultados similares y si esto dependía del perfil Th inducido. Se inmunizó 2 veces con Ag163B6 utilizando como Ad G-I: Al(OH)[[3]], inductor Th2 y G-II: ODN-CpG, inductor Th1. Dos semanas después del último inóculo se extrajeron: suero, bazo, ganglios, corazón y músculo esquelético. El título de IgG totales a-Ag no mostró diferencias entre los G-I y II pero los subtipos mostraron diferencias significativas entre G-I (IgG1= 10688 ± 2402 IgG2a=155 ± 94) y G-II (IgG1=1871 ± 542; IgG2a= 9920 ± 2449). En esplenocitos del G-II, el Ag estimuló proliferación celular (IP=5.7 ± 2.4) y aumento de IFNg e IL2, respecto al control G-0 (P<0.01). Los resultados sugieren una respuesta polarizada Th1 para G-II y Th2 para G-I. No encontramos Acs contra miosina por ELISA y WB y no observamos lesiones en músculo cardíaco. El G-I presentó en cuadriceps (sitio de inoculación) hialinización citoplasmáticas, arquitectura modificada y pequeños focos inflamatorios que no se observaron en el G-II. Dos grupos de ratones inmunizados con AdF, con o sin Ag163B6-cruzipaína, están produciendo títulos crecientes de Acs a-miosina. Concluimos que el daño en el tejido sería dependiente del adyuvante utilizado y estaría relacionado con el tipo de respuesta Th inducida.

- 538. (490) EFECTO DEL INTERFERÓN GAMMA (IFN) SOBRE LA INFECCIÓN IN VITRO CON TRYPANOSOMA CRUZI EN MACRÓFAGOS PERITONEALES (MP) DE RATONES C57BL/6 PRETRATADOS CON LPS Y PENTOXIFILINA (PTX).** PÉREZ ANA R., TAMAE KAKAZU Maximiliano, ROGGERO Eduardo, WIETZEBIN* Jeanne, REVELLI Silvia, BOTTASSO Oscar.

*Instituto de Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario; *Unite 365, Institut Curie, París, Francia*

Previamente demostramos que los MP de ratones C57BL/6 tratados con dosis desensibilizantes de LPS más Ptx aumentan la producción de IL-10 y son más permisivos a la multiplicación del T. cruzi. Dado los efectos del IFN sobre la funcionalidad del macrófago, decidimos analizar si dicha citocina podía recomponer la respuesta parasiticida del mismo. Los animales adultos recibieron inyecciones i.p. de LPS (2µg/ratón) y Ptx (2mg/ratón) durante 4 días consecutivos más una dosis al día 5 de LPS (200 µg/ratón) -LPS-, o solución fisiológica en todos los tiempos (Co). Los MP se recogieron 72 hs después, se cultivaron (MEM suplementado) y expusieron al T. cruzi cepa Tulahuén, relación 1:1, durante 48 hs, con o sin IFN (750 U/ml). Las mediciones en sobrenadantes a las 48 hs post-infección mostraron: (media±es, n=5/grupo) Factor de Necrosis Tumoral alfa (pg/ml): Co= 985±150, Co+IFN=1745±800 (ns), LPS=120±24, LPS+IFN=353±41 (p=0.004); IL-10 (pg/ml): Co=135±32, Co+IFN=130±19, LPS=835±313, LPS+IFN=103±22 (LPS vs resto p=0.004); nitrito (µM): Co=56±11, Co+IFN=82±18 (p<0.05), LPS=36±3, LPS+IFN=64±12 (p<0.05). El número de amastigotes fue: Co=38.4±6, Co+IFN=20±8 p<0.05, LPS=130±35, LPS+IFN=19±8, p<0.02 (LPS vs resto, p<0.02). La recuperación de la capacidad parasiticida del grupo LPS+IFN coincide con un mejoramiento en la producción de mediadores involucrados en el aclaramiento parasitario. Una asociación en el mismo sentido se dio en los Co+IFN pero sólo fue significativa para los nitritos.

- 539. (502) LA MAYOR RESISTENCIA DE LAS RATAS ADULTAS A LA INFECCIÓN AGUDA EXPERIMENTAL CON TRYPANOSOMA CRUZI SE ASOCIA A UNA MEJOR RESPUESTA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS.** PASCUTTI MARÍA FERNANDA, HOURQUESOS María del Carmen, BOTTASSO Oscar, WIETZERBIN Jeanne, REVELLI Silvia.

Instituto de Inmunología Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario, Dpto Bioquímica Clínica Fac.Cs. Bioquímicas y Farmaceuticas UNR, Unidad 365 Institut Curie Paris

El desafío con *T. cruzi* en ratas "I" al destete (Des) provoca una enfermedad aguda bien evidente que se resuelve dentro del mes, mientras que en los animales adultos (Adu, 70-120 días) la infección es de menor jerarquía con escasas parasitemias. Dado que esta diferencia no guarda relación con la capacidad de los macrófagos para controlar la infección in vitro con *T. cruzi*, se investigaron los niveles circulantes de interferón gamma (IFN), factor de necrosis tumoral alfa (FNT), nitritos y anticuerpos específicos (ELISA, Wiener Lab) en ambos grupos (Des y Adu). Las ratas se infectaron con 1 (Des) o 7 (Adu) millones de tripomastigotes, cepa Tulahuén, y las muestras de suero se obtuvieron a los 4, 7, 14 y 21 días post-infección. Se presentan los datos de la etapa donde las diferencias en parasitemias fueron más notorias. Los resultados fueron (media \pm es 4-5 ratas/grupo), anticuerpos (DO), IgM día 4: Des 0.081 ± 0.027 , Adu 0.340 ± 0.051 ($p < 0.01$), día 7 Des 0.090 ± 0.030 , Adu 1.220 ± 0.060 ($p < 0.01$); IgG día 7, Des 0.310 ± 0.034 , Adu 0.940 ± 0.080 ($p < 0.01$); nitritos (μ M) día 4: Des 60 ± 10 , Adu 65 ± 15 , día 7: Des 225 ± 15 , Adu 90 ± 20 ($p < 0.015$); IFN (pg/ml) día 4: Des 281 ± 62.5 , Adu 378 ± 151 , día 7: Des 507 ± 32 , Adu 101 ± 56 ($p < 0.015$); FNT sólo presente en los Des al día 7. El mejor manejo de la infección en las ratas adultas se asocia con una respuesta de anticuerpos más apropiada en el tiempo, mientras que la mayor presencia de IFN y nitritos del grupo Des no logra conferir una más óptima protección.

- 540. (503) ESTUDIO DE ANTICUERPOS ASIMÉTRICOS (AA) EN FLUIDO VAGINAL DE HEMBRAS CBA/J VÍRGENES.** BLOIS SANDRA, OLMOS Sofía, ARIAS Karina, GENTILE Teresa, MARGNI Ricardo.

IDEHU, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Una respuesta inmune caracterizada por la producción de anticuerpos IgG precipitantes, es acompañada por una población adicional de moléculas de IgG (15-20%), del mismo isotipo, pero en el fragmento Fd de la cadena H de uno de los Fab de la molécula poseen un oligosacárido del tipo "high mannose". Los AA, al no formar agregados no pueden poner en marcha mecanismos efectores de la respuesta inmune como la formación de complejos precipitantes, fijación del complemento, depuración de antígenos, entre otros. El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia y especificidad de los AA en FV de hembras CBA/J vírgenes. El FV fue obtenido mediante lavados vaginales con PBS suplementado con inh. de proteasas. El ciclo estral de las hembras CBA/J se determinó por observación microscópica del frotis vaginal (Giemsa). Los AA fueron determinados utilizando ELISA sandwich para IgG total, IgG1, IgG2a, IgG3. El ciclo estral se divide en: Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M) y Diestro (D). El % IgG total asimétrica fue P: 8.8 ± 2.8 , E: 0, M: 23.3 ± 4.5 , D: 11.5 ± 2.5 , n=20. En todas las etapas del ciclo estral la IgG1 asimétrica fue el componente mayoritario, luego la IgG2a y la IgG3 sólo fue encontrada en D. La especificidad de la IgG asimétrica estuvo dirigida hacia *S. epidermidis*, *K. oxytoca*, *E. coli*, flora normal de la vagina. Nuestros resultados indican que los AA actúan como bloqueantes de antígenos bacterianos que son necesarios para la defensa del huésped.

- 541. (509) ALELOS HLA-DRB1 EN INDIVIDUOS CON SEROLOGÍA POSITIVA PARA TRYPANOSOMA CRUZI QUE PRESENTAN O NO MIOCARDIOPATÍA CRÓNICA.** GARCÍA BORRÁS SILVIA, DIEZ Cristina, COTORRUELO Carlos, PELLIZZON Oscar, BIONDI Claudia, BELOSCAR Juan, BOTTASSO Oscar, RACCA Amelia.

Laboratorio de Inmunogenética. Facultad de Cs. Bioq. y Farm. Universidad Nacional de Rosario, Instituto de Inmunología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.

Dado las consecuencias funcionales del polimorfismo de las moléculas HLA clase II sobre el desarrollo de la respuesta inmune, se analizaron las frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en personas infectadas con *T. cruzi* con o sin cardiopatía, respecto de una población normal. Se estudiaron 85 personas nacidas en el norte del país con similares antecedentes, 38 seropositivas (IF1, ELISA y HAI) y el resto sin evidencia de enfermedad. Los grupos no presentaron diferencias en sexo y edad. Los alelos se tipificaron mediante DNA Typing (PCR-SSO). En los seropositivos y en los controles (Co) se identificaron 10 y 14 alelos distintos respectivamente. En los primeros, los alelos más frecuentes fueron: DRB1*0409 (34,2%); DRB1*1303 o DRB1*1304 (23,7%); DRB1*1503 (21%). En el grupo Co los valores fueron DRB1*1303 o DRB1*1304 (27,7%); DRB1*0701 o DRB1*1103 (25,5%) y DRB1*0102 o DRB1*0808 (21,3%). Al comparar las frecuencias entre seropositivos y Co, las razones de Odds (OR) fueron: DRB1*0409: 4.55 (IC 95% 1.58-13.72, $p < 0.005$); DRB1*1303 o DRB1*1304: 0.89 (0.35-2.23); DRB1*1503: 1.60 (0.57-4.50); DRB1*0701: 0.63 (0.21-1.82); DRB1*0808: 0.65 (0.20-2.02); DRB1*1103: 0.35 (0.09-1.21). Dentro de los seropositivos, los cardiopatas presentaron mayor frecuencia del DRB1*1503 respecto de los no afectados, pero no significativa OR 2.41 (0.42-17.81). Determinados alelos DRB1 están asociados a la infección con *T. cruzi*, la susceptibilidad a cardiopatía requeriría estudios con mayor número de pacientes.

- 542. (537) ANTICUERPOS ESPECÍFICOS DURANTE LA INFECCIÓN AGUDA CON TRYPANOSOMA CRUZI EN DOS CEPAS DE RATONES CON DIFERENTE SUSCEPTIBILIDAD A LA MISMA.** TAMAE KAKAZU MAXIMILIANO, PÉREZ Ana, PASCUTTI María Fernanda, MARCIPAR Ivan, BOTTASSO Oscar, REVELLI Silvia.

Instituto de Inmunología Fac.Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario INTEBIO Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas Universidad Nacional del Litoral Santa Fe.

La infección aguda con *T. cruzi* mostró ser 100% letal en ratones C57BL/6 con un 60% de recuperación en los BALB/c, sin diferencias en los niveles circulantes de parásitos e interferón gamma, aunque sí para el factor de necrosis tumoral alfa e IL-10 que aparecieron elevados o disminuidos en C57BL/6 respecto de BALB/c. El pretratamiento de C57BL/6 con lipolisacárido (LPS) y pentoxifilina (Ptx) redujo la mortalidad (inyecciones ip de LPS 2 μ g/día y Ptx 2mg/ratón, 4 días consecutivos, más una dosis de LPS 200 μ g al día 5 e infección 48 hs después, 100 tripomastigotes cepa Tulahuén). En el presente trabajo se evaluó si existían diferencias en los niveles de IgG específicas (ELISA). Los resultados entre cepas fueron (media \pm es, 4-8 ratones/grupo, DO) día 7: BALB/c 0.63 ± 0.03 , C57BL/6 0.14 ± 0.02 ($p < 0.001$); día 14: BALB/c 0.94 ± 0.04 , C57BL/6 0.41 ± 0.08 ($p < 0.005$); día 21: BALB/c 0.99 ± 0.05 , C57BL/6 1.29 ± 0.09 ; controles BALB/c 0.05 ± 0.01 , C57BL/6 0.07 ± 0.03 . Las parasitemias siguieron sin mostrar diferencias. Los ratones C57BL/6 pretratados (LPS+Ptx) presentaron mortalidad y parasitemias disminuidas, sin diferencias en los niveles de anticuerpos respecto de los no pretratados (ej. día 21, LPS+Ptx 0.90 ± 0.24 sin pretratar 0.72 ± 0.30). La menor severidad de la infección en BALB/c coexistió con una respuesta de anticuerpos específicos más precoz. El efecto protector del pretratamiento con LPS+Ptx no estuvo ligado a cambios significativos en los niveles de IgG.

- 543. (767) CARACTERIZACION DE ANALOGOS PEPTIDICOS DERIVADOS DEL INTERFERON-ALFA2B.** BLANK VIVIANA C, PEÑA Clara, ROGUIN Leonor.

IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET

En un trabajo previo caracterizamos la acción antimitogénica del interferón-alfa2b (IFN-a2b) y dos péptidos sintéticos corres-

pondientes a las secuencias 122-139 y 29-35. Con el propósito de obtener análogos más potentes, diseñamos nuevos péptidos que simulan el dominio de unión del IFN- α 2b a sus receptores. En primer lugar sintetizamos el péptido lineal 122-137-Gly((138))-Gly((29))-30-35, en el cual las Gly 138 y 29 reemplazan residuos de Cys que en la molécula nativa se unen a través de un puente disulfuro. Asimismo, se añadieron residuos de Gly en los extremos N y C-terminal del péptido. La unión de estos extremos permitió obtener un péptido cíclico que, a través del puente formado por las cuatro Gly, mantiene la distancia que separa los residuos 122 y 35 en la estructura cristalina del IFN- α 2b. Cuando evaluamos tanto la interacción de los péptidos con receptores para IFN- α 2b como sus efectos biológicos, demostramos que ambos derivados inhiben la unión de ((125))I-IFN- α 2b a receptores de células WISH y la proliferación celular, siendo mayor la acción inhibitoria del péptido cíclico que la del lineal. Los resultados indican que los péptidos obtenidos a partir de los fragmentos 122-139 y 29-35 del IFN- α 2b se encuentran involucrados en el dominio de unión al receptor y en la expresión de la actividad antiproliferativa de la citoquina. El derivado cíclico constituye el análogo que mejor representa al epitope conformacional o "mimotope" que interactúa con receptores específicos.

544. (781) MADURACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS INDUCIDA POR FAGOCITOSIS DE CÉLULAS APOPTÓTICAS Y NECRÓTICAS DE MELANOMA HUMANO. LONGHI MARÍA PAULA, MACHIAVELLI Leticia, BOVER Laura, BARRIO Marcela, MORDOH José.

Fundación Instituto Leloir, IIB-BA, Centro de Investigaciones Oncológicas -FUCA

Las células dendríticas (CD) captan antígenos (Ag) eficientemente tras lo cual maduran perdiendo la capacidad fagocítica y presentan dichos Ag a linfocitos T para activarlos. El cargado de CD con células tumorales está siendo explotado para el diseño de vacunas. Con el objeto de comparar la fagocitosis, maduración y estimulación linfocitaria, CD inmaduras, derivadas de monocitos, fueron coincubadas con células de melanoma humano apoptóticas (Apo) (70Gy) y necróticas (Nec) (50Gy+3ciclos congelación-descongelación). La maduración de CD fue analizada por la pérdida de captación de FITC-Dextran y la expresión de marcadores específicos. El porcentaje de fagocitosis de Apo (78% Anexina +IP/-) fue del 50%. Para Nec (88% Anexina+IP+) se alcanzó el 60%. La coincubación CD-Nec produjo mayor maduración de CD que CD-Apo (incorporación FITC-Dextran $6 \pm 0.5\%$ vs $68.5 \pm 7.5\%$, respectivamente). LPS, MCM (medio cond. monocitos), IL-1 β y TNF- α durante la coincubación de CD-Apo aumentaron la maduración sin alcanzar los valores obtenidos para CD-Nec; CD40L no tuvo efecto. CD-Nec también indujeron mayor aumento en la expresión de CD86 y HLAII. Se compararon la proliferación y síntesis de IFN intracelular inducida en linfocitos estimulados con CD-Apo y CD-Nec. Concluimos que el cargado de CD con células Nec induce mayor maduración sin necesidad de agregar citoquinas, respecto de las Apo, aunque ambas son igualmente captadas. Estos datos podrían tener relevancia en el diseño de vacunas de CD cargadas con células tumorales.

545. (806) LA INFECCIÓN MURINA POR TRYPANOSOMA CRUZI AFECTA DE MANERA CEPA-ESPECÍFICA LA FUNCIONALIDAD Y MADURACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS. ALBA SOTO CATALINA, SOLANA María Elisa, FERNANDEZ ESPINOSA Damian, GONZALEZ CAPPÀ Stella Maris.

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina. UBA.

Las células dendríticas (CD) cumplen un papel primordial en la activación de la respuesta inmune. Hemos descrito que la infección con *T. cruzi* modifica la expresión de moléculas de MHCII en CD esplénicas de modo cepa dependiente: la infección aguda con la cepa letal RA disminuye la expresión de MHCII en CD mientras que la cepa no letal K98 la conserva. Actualmente, evaluamos en CD esplénicas aisladas de ratones infectados con RA

y K98 el estado de maduración y su habilidad para activar in vitro LTCD4 y CD8 alogénicos. El estado de maduración de CD se correlaciona con la formación de clusters homotípicos. CD aisladas de ratones infectados con K98 y controles formaron luego de 12h de cultivo mayores clusters que las de infectados con RA. Así mismo, en una reacción linfocitaria mixta usando como estimuladoras CD obtenidas de ratones C3H/HeNk infectados y controles y como respondedoras LTD4 y CD8 de ganglio linfático de ratones C57Bl/6b, los LT proliferaron en presencia de CD de ratones infectados con K98 y controles pero presentaron escasa respuesta proliferativa frente a CD de ratones infectados con RA (CD4: $P < 0,001$; CD8: $P < 0,05$). La modulación de las funciones biológicas de CD es dependiente de la cepa infectante. La cepa letal RA disminuye su capacidad para estimular LT alogénicos y formar clusters homotípicos reflejando alteraciones en los procesos de maduración y presentación antigénica. La cepa no letal K98 estimula el potencial inmunostimulatorio de las CD.

546. (831) INHIBICIÓN DEL PROCESO DE PLEGAMIENTO DE UNA β LACTAMASA POR ANTICUERPOS MONOCLONALES. MATHOV IRINA, *SANTOS Javier, VELIKOVSKY Alejandro, *ERMACORA Mario, FOSSATI Alberto.

*Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA y LEPP, CyT, Universidad Nacional de Quilmes**

Las mutantes truncadas D9 y D19 de la β lactamasa (EXO) de *Bacillus licheniformis* presentan una cinética de plegamiento lenta que permite estudiar los intermediarios de plegamiento (IP). El objetivo de nuestro trabajo fue obtener anticuerpos monoclonales (AcMo) capaces de distinguir esos IP. El suero de los ratones inmunizados con EXO y adyuvante de Freund (AF) presentó reactividad (ELISA) contra las tres proteínas; al realizar ensayos de inhibición en fase líquida, la reactividad frente a EXO sólo fue inhibida con EXO soluble, mientras que la reactividad frente a D19 sólo fue inhibida por las mutantes truncadas. Los AcMo ($n=5$) obtenidos a partir de estos ratones sólo reaccionaron con EXO por ELISA. De los animales inmunizados con D19 se obtuvieron 21 AcMo que reconocieron las tres proteínas por ELISA. Al realizar ensayos de inhibición de la reactividad de los AcMo frente a D9 utilizando las proteínas solubles, se observó que 12 fueron inhibidos con D19 y/o D9, 5 presentaron inhibición por tres proteínas, 2 presentaron inhibición frente a EXO y 2 fueron inhibidos por EXO o D9. Sólo estos 4 últimos AcMo fueron capaces de inhibir el plegamiento de D9 (70% de inhibición de la actividad enzimática en presencia del AcMo (50 μ g/ml) frente al control sin AcMo). El sitio de unión del AcMo no sería el sitio activo de la enzima, ya que no inhiben la actividad de la EXO o de la D9 ya plegadas. Obtuvimos AcMo capaces de distinguir distintos IP o detener el proceso normal de plegamiento.

547. (857) INFLUENCIA DE LA INFECCIÓN CON TRYPANOSOMA CRUZI SOBRE EL COMPARTIMIENTO DE LINFOCITOS B A NIVEL CENTRAL. ZÚÑIGA ELINA, ACOSTA-RODRIGUEZ Eva, MERINO Cecilia, YAGITA Hideo, GRUPPI Adriana.

Inmunología. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba

En el presente estudio investigamos la influencia de un proceso infeccioso sobre el compartimiento de linfocitos B (LiB) a nivel central. Para ello, se obtuvieron células de médula ósea (MO) de ratones Normales (N) e infectados con 500 tripomastigotes (tp) de *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) en el día 15 post-infección (I). Observamos que los ratones I presentan una marcada hipoplasia celular que afecta principalmente los LiB inmaduros (LiBinm) HSAaltoB220bajo (N:8.9%, I:0.2%). Esta hipoplasia no se debe a una mayor migración de LiBinm a periferia ya que los ratones I presentan en bazo, un % disminuido de estos LiB (N:8.5%; I:2.6%). Además, los LiB de MO de los ratones I presentan un mayor % de células con contenido hipodiploide de DNA (N:7.6%; I:28.6%). Sin embargo, el parásito no sería el responsable directo de la hipoplasia de LiB, ya que la presencia de tp viables en cultivos de células de MO N no modifica el % de muerte, ni el %

de LiBinm (sin tp:16%; con 0,1 tp/célula:17,8%). La vía Fas-FasL tampoco sería responsable de la muerte de LiB de MO, ya que los ratones I tratados con Ac anti-FasL presentan el mismo número de LiB en MO que los tratados con Ac control. Mediante cocultivos de MO N e I, demostramos que las células de MO I liberan un factor soluble capaz de eliminar LiBinm en la MO N y este efecto es inhibido depletando las células Mac+ en la MO I (%LiBinm en MO N cocultivada con MO N: 16,5%; con MO I:9,4%; con MO I sin células Mac+:14,8%).

548. (875) EFECTO DE SUPERANTÍGENOS SOBRE LINFOMAS T MURINOS. BERGUER PAULA, PEPPER Marcela, LIOY Virginia, NEPOMNASCHY Irene, PIAZZON Isabel.

ILEX-CONICET. Instituto de Investigaciones Hematológicas. Academia Nacional de Medicina

Demostremos que ratones inoculados con el linfoma T14 que expresa monoclonalmente la región variable β (V β) 14 en su receptor muestran una sobrevida mayor al estar infectados con una variante del virus del tumor mamario murino que codifica para un superantígeno (SAG) con especificidad para células T V β 14+. Investigamos el efecto de otro SAG -la enterotoxina B de *Staphylococcus aureus* (SEB)- sobre el linfoma T8 monoclonal para la expresión de la región V β 8.2. Se cultivaron células T8 con macrófagos singeneicos en presencia (a) o ausencia (b) de 10 μ g/ml de SEB. A las 48hs la proliferación medida por incorporación de timidina tritiada fue de: a) 92377 \pm 10000; b) 17224 \pm 2820 (media cpm \pm DS; n=3). A las 96hs el porcentaje de células T8 hipodiploides (citofluorometría) fue significativamente mayor en el grupo cultivado con SEB (66.1 \pm 4.1 vs 24.6 \pm 4.3, p<0.001, n=4). Finalmente se inocularon ratones con 1000 células T8 por vía iv. Dos y tres días después se inocularon por vía ip 50 μ g de SEB o SF. Los ratones tratados con SEB mostraron una sobrevida significativamente mayor que el control (41.6% (5/12) vs 0% (0/12), p<0.02). El tiempo de vida media resultó además significativamente mayor en los ratones tratados con la toxina (p<0.01). Esta no ejerció efectos sobre el linfoma T14. Estos resultados muestran que algunos linfomas T murinos responden a la acción de los SAGs en forma similar a las células T normales y abren la posibilidad de su futura utilización con fines terapéuticos.

549. (876) ROL DE DIFERENTES REGIONES ANTIGÉNICAS EN LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS DE GRANULOCITOS MARINO JULIETA, STERIN-PRYNC A., ROGUIN L.

*Facultad de Farmacia y Bioquímica IQUIFIB (UBA-CONICET), *BIOSIDUS S.A.*

En un trabajo anterior caracterizamos dos anticuerpos monoclonales (mAbs) dirigidos contra el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y demostramos que los mAbs denominados 6E3 y 8C2 reconocen epitopes conformacionales localizados en distintas zonas de la molécula. Puesto que ambos mAbs neutralizaron la proliferación de células mieloides inducida por G-CSF, decidimos investigar la accesibilidad de estas regiones antigénicas luego de su unión a receptores. Tanto la falta de unión del 125I-mAb 6E3 a complejos G-CSF:receptor, como el efecto inhibitorio del mAb sobre la interacción del 125I-G-CSF con células, sugirieron que el epitope 6E3 se encuentra involucrado en el dominio de unión al receptor. Por otro lado, aunque el epitope 8C2 permaneció expuesto en complejos G-CSF:receptor formados en células a 4°C, el número de epitopes accesibles disminuyó significativamente cuando la incubación se realizó durante 1h a 37 °C en condiciones que inhiben la internalización. Esta disminución no se observó cuando el 125I-mAb 8C2 se unió previamente al G-CSF, indicando la capacidad del mAb de bloquear el enmascaramiento del epitope. Los resultados obtenidos sugieren que la oligomerización de receptores sería responsable del cambio de accesibilidad del epitope 8C2. Este proceso, inducido luego de la unión de una región cercana o incluida en el epitope 6E3 con una molécula de receptor, constituye un paso necesario para desencadenar la respuesta proliferativa de la citoquina.

550. (882) CONSTRUCCIÓN DE UNA BIBLIOTECA COMBINATORIAL DE AC DE UN PACIENTE CON CARDIOMIOPATÍA CRÓNICA DE CHAGAS. GRIPPO VANINA, MAHLER Evelina, RUIZ Aurora, MADOERY Cristian, TENTORI María Cristina, LEVIN Mariano.

Instituto de Investigacion en Ingenieria Genetica y Biologia Molecular Servicio de Cardiología, Hospital Fernandez

Los pacientes con cardiomiopatía crónica chagásica (CCCh) presentan Ac dirigidos contra las proteínas ribosomales P de T.cruzi (Ac anti-P) que poseen la propiedad de estimular receptores cardiovasculares. El componente patogénico de estos Ac se evidenció en modelos de inmunización murinos y para Ac policlonales purificados a partir de sueros de pacientes con CCCh. La complejidad estructural y funcional de la respuesta humoral anti-P nos llevó a construir una biblioteca combinatorial de Ac a partir de médula ósea de un paciente con CCCh que posee Ac con actividad funcional sobre receptores β 1-adrenérgico y M2-muscarínico. A partir de la médula se preparó ARN total y se sintetizó el ADNc. Con primers específicos se amplificaron las regiones variables de cadenas pesadas (VH) y livianas (Vk y Vl). Con dos reacciones de "overlap-PCR" se construyeron los fragmentos Fab. Estos se clonaron en el vector pComb3x y se electroporaron en E.coli XL1-Blue. El tamaño de la biblioteca fue de 1x10⁸(8)ufc/ μ g. Se procedió al rastreo de la biblioteca aprovechando la afinidad de los fagos que expresan los Fab por antígenos de T.cruzi y sus proteínas ribosomales P. Se identificaron y caracterizaron clones reactivos anti-P que compitieron eficientemente con un anticuerpo monoclonal anti-P por el mismo epitope. Esta es la primera biblioteca combinatorial de Ac de un paciente con enfermedad de Chagas y es la base para obtener Ac monoclonales humanos contra antígenos relevantes de T.cruzi.

551. (953) FUNCIONALIDAD DE CELULAS NATURAL KILLER POR CITOMETRIA DE FLUJO JESSICA SARDAÑONS, CARAM María Marta, NENDA Graciela, GAILLARD María Isabel, BEZRODNIK Liliana, RIVAS María.

Hospital R Gutierrez Inmunología, Buenos Aires

La funcionalidad de las células natural killer (NK) se valora por su potencial citotóxico. El método "gold standard" es el ensayo de liberación de cromo. Nuestro interés fue estandarizar una técnica alternativa por Citometría de Flujo, valorar su reproducibilidad y establecer valores de referencia. Se estudiaron 27 individuos sanos. Método: 100.000/ml de células target (T) K562 marcadas con DIO (3,3' dioctadecyloxycarbocyanine perchlorato) y 5.000.000/ml células mononucleares de sangre periférica (efectoras :E) se incubaron con 100 mg% de loduro de Propidio (IP) 2hs. a 37°C en 5% CO2 con relación E:T de 0:1 (muerte espontánea) 75:1, 50:1, 25:1, 12.5:1. Se adquirieron células hasta llegar a 3000 eventos en FL1(DIO+). En un gráfico de FL1(DIO) vs. FL3 (IP) se definieron cuatro cuadrantes (C): C1:DIO- ó + débil IP+ (Tdñadas). C2:DIO+ IP+ (T muertas). C3:DIO- ó + débil IP- (E+debris). C4:DIO+ IP- (T intactas). El % de lisis fue calculado según: C1 + C2 / 100-C3 x 100. Resultados: El % de citotoxicidad media para E/T (X \pm SD) 75:1= 48.5 \pm 13.8, 50:1= 39.3 \pm 13.1, 25:1=29.9 \pm 13.2, 12.5:1=21.2 \pm 9.3. No se encontraron diferencias significativas (p>0.05) en el % de lisis en un mismo individuo. Destacamos que la citometría de flujo es una alternativa viable y reproducible, que evita el uso de material radiactivo para la evaluación de la funcionalidad NK. Siendo importante que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

552. (980) PAPEL DE LAS POBLACIONES DE TRYPANOSOMA CRUZI EN LA RESPUESTA INMUNE CELULAR. SOLANA MARÍA ELISA, HOSTENCH María Clara, ALBA SOTO Catalina, BUKATA Lucas, GONZALEZ CAPPÁ Stella Maris.

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología. Facultad de Medicina. UBA.

Estudiamos las características de la respuesta inmune celular (RIC) durante la infección murina con cepas de T.cruzi de com-

portamiento polar (K98:miotrópica/no letal; RA pantrópica/letal) analizando: i-capacidad proliferativa de LB y LT frente a mitógenos; ii-composición relativa de LB y LT CD4 y CD8 en bazo y iii-efecto de la infección sobre los LB como presentadores de Ags. En esplenocitos de ratones infectados determinamos la respuesta proliferativa de LB frente a LPS y LT frente a Con A observándose durante los primeros 15 días pi menor proliferación en animales infectados con RA vs normales e infectados con K98 ($p < 0.05$ y $p < 0.001$), lo cual revirtió en fase crónica. Encontramos por citometría de flujo disminución del porcentaje de LB (CD19+) para RA vs controles e infectados con K98 ($p < 0.05$). Sin embargo, el número relativo de LT CD4+ y CD8+ esplénicos no se modificó. Para evaluar activación de LB en presentación antigénica, determinamos expresión de MHC II y de moléculas coestimuladoras. Observamos que la infección con RA no indujo aumento de MHC II que sí se registró con K98 ($p < 0.001$). En la infección crónica los LB de ratones sobrevivientes a la infección con RA superaron los niveles de MHC II y CD86 registrados con K98 ($p < 0.05$). Sólo la cepa más virulenta indujo tempranamente inmunomodulación negativa de RIC que facilitar la progresión letal de la infección aguda. Contrariamente, K98 desarrolló una respuesta compatible con sobrevida y curso crónico de la infección.

553. (988) CRUZIPAINA PROMUEVE EL CRECIMIENTO INTRACELULAR DE AMASTIGOTES DE T. CRUZI EN CÉLULAS J774 E INDUCE ARGINASA POR SEÑALES INTRACELULARES MEDIADAS POR PKA Y P38 MAPK. STEMPIN CINTHIA, CERBAN Fabio.

Inmunología. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Cruzipaína (Cz) induce la activación de arginasa en macrófagos (Mo) y favorece la liberación de trypomastigotes (Tp) extracelulares de Mo estimulados con Cz e infectados con T. cruzi. Para estudiar el crecimiento intracelular del parásito, Cel J774 se incubaron con LPS, Cz, R13: Control (-) o IL4: Control (+) por 24h y se las infectó con Tp por 24h más. Los amastigotes (Ama) se contaron 24, 48, 72 y 96h post-infección por inmunofluorescencia. Cel no tratadas o incubadas con R13 no restringieron el crecimiento intracelular, pero Cel incubadas con LPS sí. El tratamiento con Cz produjo un crecimiento descontrolado de Ama, desarrollándose un número similar al de Cel incubadas con IL4. Cz disminuyó la producción de óxido nítrico e IL12 en Cel J774 estimuladas con LPS e indujo la expresión de Arginasa I (por Western blot) en Cel incubadas sólo con Cz. Para estudiar las señales de kinasas (proteín kinasa A (PKA), PKC, tirosin kinasas (TK), p38 y p44/p42 MAPKinasas) en la inducción de arginasa mediada por Cz, Cel J774 fueron tratadas 6h con los respectivos inhibidores (KT5720, Calphostin C, Genistein, SB203580, PD98059), previo al estímulo con Cz. Los inhibidores de PKA y p38 MAPK produjeron una disminución de la actividad de arginasa ($10,1 \pm 2,3$ y $7,1 \pm 1,8$ vs $19,6 \pm 1,7$ ug de urea producidos por Cel sin inhibidor, $p < 0.05$ en ambos casos). Cz favorece el crecimiento intracelular de Ama de T. cruzi en Cel J774 e induciría arginasa I por señales intracelulares mediadas por PKA y p38 MAPK.

554. (1017) CRUZIPAÍNA, GLICOPROTEÍNA INMUNOGENICA DEL TRYPANOSOMA CRUZI, MODULA LA RESPUESTA INMUNE DE CÉLULAS DEL EXUDADO PERITONEAL. PELLEGRINI ANDREA, GUIÑAZÚ Natalia , AOKI Pilar, GEA Susana.

*Inmunología Dpto. de Bioquímica Clínica Facultad de Ciencias Químicas Universidad Nacional de Córdoba
Inmunología, Dpto. de Bioquímica Clínica, Fac. de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba*

En un modelo experimental demostramos que cruzipaína (Cz) induce respuesta autorreactiva con aumento de linfocitos B (LB) y daño cardíaco. Teniendo en cuenta el rol de LB1 peritoneales en la autorreactividad, el objetivo de este trabajo fue estudiar las poblaciones celulares presentes en el exudado peritoneal (CEP) de ratones BALB/c y la respuesta proliferativa de estas células a los 5 y 10 días post inyección i.p. de 50 ug de Cz. Como control, se inyectaron ratones con PBS. Por citometría de flujo se analizó

el porcentaje de CEP positivas para CD19, CD5, CD11c y Gr-1. No se detectaron cambios significativos en las poblaciones inmunes vs control, CD19+ (69 vs 76%), CD5+ (30 vs 25%), CD11c (11 vs 9%) y Gr-1 (14 vs 13%) a los 5 días post inmunización. Al analizar la población B1a CD19+ CD5+, se observó un ligero incremento en el grupo inmune (9,3 vs 7,5%). El porcentaje de células CD5+CD19- fue mayor en el grupo inmune (16 vs 11%) lo cual sugiere un aumento de células T o NK. Al analizar la respuesta proliferativa mediante incorporación de timidina-(3H) se observó que CEP estimuladas con medio solamente son capaces de proliferar (2440 ± 638 vs 888 ± 88 cpm, $p = 0,00003$). Notablemente, al estimular las células con Cz se observó una mayor proliferación (7158 ± 1928 vs 941 ± 340 cpm, $p = 0,0001$). Una simple inyección de Cz en ratones BALB/c es capaz de activar las CEP favoreciendo la proliferación espontánea y el estímulo con Cz aumenta significativamente esta respuesta in vitro.

555. (1036) CARACTERIZACIÓN DE AUTOANTICUERPOS INDUCIDOS POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS MURINA A59 (MHV A59). MATHIEU PATRICIA ANDREA, GÓMEZ Karina, COUTELIER Jean-paul, RETEGUI Lilia.

Instituto de Química y Fisicoquímica Biológica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Unit of Experimental Medicine, Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium.

En un trabajo previo detectamos autoanticuerpos (autoAb) dirigidos contra la fumarilacetato hidrolasa (FAH) en ratones infectados con el MHV A59. Se comprobó que el desarrollo de los autoAb contra este antígeno intracelular no se debía a la hipergamaglobulinemia asociada a la infección, ni a la liberación de la FAH producida por la hepatitis. Con el propósito de establecer una posible reacción de cruce entre la FAH y las proteínas del MHV se inmunizaron ratones BALB/c con la FAH aislada de hígado de rata y los sueros se ensayaron en un ELISA. Se observó que un 20 % de los mismos reconocían las proteínas virales. Por otro lado, se eligieron 54 decapeptidos que presentaban más del 70% de homología de secuencia entre la FAH y las proteínas virales, los que fueron sintetizados en fase sólida y luego enfrentados con los diferentes sueros. Las muestras obtenidas luego de la inmunización con FAH, y que también reconocían al MHV, reaccionaron con distintos péptidos virales y de la enzima, pero no se observó un patrón definido de reactividad. Los Ab presentes en los animales infectados reconocieron secuencias de la nucleocápside y de la RNA-polimerasa viral, así como los péptidos homólogos de la FAH. Puesto que no se halló correlación entre el nivel de Ab anti-MHV y anti-FAH, el conjunto de resultados sugiere la existencia de un reconocimiento mutuo de las proteínas virales y de la FAH que se expresaría en forma diferente según los individuos.

556. (1110) LAS CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LA PROTEÍNA RIBOSOMAL P0 DE TRYPANOSOMA CRUZI CUMPLEN UN ROL FUNDAMENTAL EN LA INDUCCIÓN DE ANTICUERPOS EN LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. EDREIRA MARTIN M., JURI AYUB Maximiliano, LOPEZ BERGAMI Pablo, AGUILAR Carlos , LEVIN Mariano.

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular Laboratorio de Biología Molecular Estructural, Universidad de San Luis

En la infección por T. cruzi, la respuesta humoral contra la proteína ribosomal TcP0 se encuentra exclusivamente dirigida contra el epítipo P015 del extremo C-terminal. Sin embargo, la inmunización con MBP-TcP0 produjo anticuerpos contra una serie de epitopes, indicando la presencia de sitios antigénicos potenciales fuera del C-terminal de esta proteína. Determinaciones biofísicas, ensayos de proteólisis limitada y mapeo con suero y Mabs, nos permitió proponer que TcP0 presenta un dominio C-terminal de 7 kD, altamente flexible, fusionado a través de un loop expuesto, a un dominio N-terminal globular, compacto. La alta antigenicidad mostrada en la infección natural por el extremo C-terminal en su conformación nativa, podría deberse a su gran flexibilidad y las propiedades de su secuencia priMaría. Epitopes del

N-terminal y la porción central estarían ocultos dentro de una estructura terciaria compacta. En nuestro modelo, la estructura compacta de la proteína recombinante podría ser desarmada luego de la inmunización, exponiendo epítopos ocultos. El extremo C-terminal, digerido en ensayos de proteólisis limitada, interactuaría con TcP1. La interacción P0-P1 fue comprobada por doble híbrido. La inclusión de TcP0 en el complejo pentamérico que forma la protuberancia del ribosoma, a través de la interacción con P1 y su gran estabilidad, acentúan la relevancia de la flexibilidad y exposición del C-terminal de TcP0 en la inducción de una respuesta humoral durante la infección.

- 557. (1113) EVIDENCIA CITOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LA INTERACCIÓN ENTRE ANTICUERPOS DE PACIENTES CHAGÁSICOS Y RECEPTORES B1 Y B 2 ADRENÉRGICOS HUMANOS, EN LÍNEAS CELULARES ESTABLEMENTE TRANSFECTADAS.** LABOVSKY VIVIAN, SMULSKI Cristián R., LEVY Gabriela V., LEVIN Mariano J.

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, Buenos Aires

Pacientes con cardiomiopatía crónica chagásica (CcCh) presentan anticuerpos (Ac) autorreactivos contra los receptores $\beta 1$ y $\beta 2$ adrenérgicos ($\beta 1/\beta 2$ AR) producto del mimetismo entre epítopos inmunodominantes de las proteínas ribosomales P (TcP0 y TcP2b) de *T. cruzi* y dichos receptores. En el presente trabajo se demuestra la interacción física de IgGs de pacientes con CcCh y de Ac monoclonales (Mabs) contra la región C-terminal de TcP0 (P015) y TcP2b (R13) con los receptores beta adrenérgicos utilizando técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en líneas celulares COS-7 transfectadas con los genes correspondientes. La especificidad de dicha interacción se confirmó utilizando Mabs contra los $\beta 1/\beta 2$ AR y como control inespecífico células COS-7 sin transfectar. El criterio utilizado para determinar la existencia de dicha interacción fue tomar como positivo aquel ensayo que presente similar patrón de IFI que el Mab específico para cada uno de los receptores en estudio. Ver tabla de resultados (P=Positivo N=Negativo)

COS-7	Mab $\beta 1$	Mab $\beta 2$	R13	P015	IgG CcCh (n=5)	IgG Ctrol (n=10)
$\beta 1$	P	N	P	P	60%	0%
$\beta 2$	N	P	N	N	20%	0%

Los resultados indican que existen en estos paciente Ac capaces de reaccionar contra epítopos de los $\beta 1/\beta 2$ AR y generar una respuesta funcional (aumento de AMPc).

- 558. (1142) PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES DE LLAMA PARA EL DESARROLLO DE INHIBIDORES ENZIMÁTICOS ESPECÍFICOS.** URRUTIA MARIELA, ZAREBSKI Laura, VILA MELO Guillermo, GOLDBAUM Fernando.

Fundación Instituto Leloir, Buenos Aires

Los camélidos (camellos, llamas, etc.) tienen una característica muy particular en cuanto a sus inmunoglobulinas. Una fracción importante de sus anticuerpos de isotipo IgG carecen de cadena liviana y del dominio CH1 de la cadena pesada. Esto hace que el sitio de combinación de estos anticuerpos este formado por una sola región variable (VHH). Estos anticuerpos desarrollan una estrategia de binding muy particular, basada en la presencia de CDR3s (complementary determining region 3) muy largos, los cuales son capaces de penetrar en las concavidades de las proteínas que reconocen. Por ello se ha postulado el uso de estos anticuerpos para la inhibición específica de enzimas. Planeamos producir y caracterizar anticuerpos de camélidos específicos contra diversas proteínas. Como primer etapa utilizamos como inmunógeno modelo la enzima recombinante lumazina sintetasa de *Brucella abortus*. Se inmunizaron llamas y a partir de sangre periférica de dichos animales se purificaron células sanguíneas periféricas. Mediante transcripción reversa y PCR con

oligonucleotidos degenerados se levantaron los genes VHH, los cuales fueron introducidos en un vector para display en fagos. Así obtuvimos una biblioteca de 2x10⁶ clones independientes, los cuales fueron enfrentados al antígeno y seleccionados por su capacidad de unirse al mismo. Los resultados del panning y la selección, junto con la caracterización de los clones positivos serán discutidos.

- 559. (1144) LA FLUDARABINA INDUCE EN FORMA SELECTIVA LA EXPRESIÓN DE GALECTINA-1 EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA B (LLC-B).** FERNANDEZ CALOTTI PAULA, RUBINSTEIN Natalia, GAMBERALE Romina, TOSCANO Marta, GEFFNER Jorge, RABINOVICH Gabriel, GIORDANO Mirta.

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina Laboratorio de Inmunogenética. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Facultad de Medicina. UBA

La fludarabina (FLU) es un análogo de adenosina que se emplea para el tratamiento de la leucemia linfática crónica-B (LLC-B) por su capacidad de inducir apoptosis a células linfoides. Galectina-1 (Gal-1), proteína con propiedades inmunosupresoras específicas, se expresa en linfocitos B activados y regula la sobrevivencia de linfocitos T. El objetivo del presente estudio fue estudiar la facultad de FLU y otros agentes citostáticos de modular la síntesis de Gal-1 en células de pacientes LLC-B como un potencial mecanismo modulador de la función T. La expresión de Gal-1 fue evaluada por ensayos de Western blot en extractos obtenidos de células de pacientes LLC-B (n=17) tratadas in vitro por 24-48 h con diferentes concentraciones de FLU. Se observó un incremento de la expresión de Gal-1 (entre 2 y 20 veces) en células LLC-B que fue dependiente de la dosis de FLU utilizada (2,5, 5 y 10 $\mu\text{g/ml}$). Este incremento fue selectivo, ya que no se observó en células LLC-B sometidas a la acción de otros agentes citostáticos o pro-apoptóticos como cloranbucilo, peróxido de hidrógeno o dexametasona. Muchos de estos agentes no alteraron los niveles de Gal-1 y otros como cloranbucilo lograron disminuirlos. En todos los casos se utilizaron células LLC-B de pacientes con niveles espontáneos de apoptosis menores a 20%. La inducción selectiva de Gal-1 podría representar un potencial mecanismo alternativo para explicar el efecto inmunosupresor de la FLU sobre linfocitos T activados en LLC-B.

- 560. (454) LA PILOCARPINA PRODUCE UN DESCENSO DEL NRO DE CELULAS CD3-HLA DR EN SANGRE PERIFERICA Y GLANDULAS SALIVALES MENORES, AUMENTANDO EL FLUJO SALIVAL EN PACIENTES CON SINDROME DE SJÖGREN PRIMARIO.** FOURCADE MARIANO GASTON, ROMANINI E.F, MONACO A., MAMANI M, MARTINEZ L, CATALAN PELLET A.C, NARVAITZ M, SCOLNIK M, NAHMOD V.E, SORMANI DE FONSECA M.L

HOSPITAL RIVADAVIA-REUMATOLOGIA. HISTOPATOL-INMUNONCOL-ACAD NAC DE MED-SUST VASOACT A.LANARI UBA.

Introducción: El SSp es una exocrinopatía autoinmune con infiltrados MN de glándulas salivales menores y lagrimales. La presentación de autoantígenos es en el contexto HLA clase 2 en dicha enfermedad. En estudios previos observamos que existe una disminución significativa del infiltrado MN de gland salival menores y aumento del flujo salival en pacientes tratados con Pilocarpina. Previamente se demostró in vitro que la Pilocarpina inhibe la síntesis de DNA, IFN γ , IL2r en CMSP activadas (Nahmod, VE y col). Objetivo: Analizar el efecto colínege M1-M2 Pilocarpina sobre pob cel DR-CD3 en SP y biopsias de GS menores y su relación con el flujo salival. Materiales y Metodos: N=10 pac con SSp segun crit Europ. Edad prom 58 años, t de evol prom 10 años, sexo fem.. Crit de Inc: segun los Europ. Diagrama de estudio: Trat: Pilocarpina 15mg/día / 2 meses. FACS ATc DR-CD3 de SP y en biopsias de glánd saliv menor, metodo de detección: inmunohistoquímica-avidina-biotina-peroxidada-antiperoxidada. Resultados: n=10 presentaron

una disminución prom del 66% de LT DR-CD3, (P=0.017) en SP y LT DR-CD3 en biopsias El flujo salival aumento en n=7 media de 0.069±0.02 pret y 0.1846±0.06 ml post.. Conclusiones: El HLA DR es un marcador de activación de LT. Su disminución en SPy biop de glánd salivales menores asociado a un aumento del flujo salival, sugeriría que la Pilocarpina ademas de actuar como un agente activador de glándulas exócrinas tendría un posible efecto neuroinmunomodulador.

ONCOLOGÍA V

- 561. (773) ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DE COMPUESTOS NATURALES Y DERIVADOS NITRADOS DE FLAVONA EN LÍNEAS TUMORALES HUMANAS.** BLANK VIVIANA, POLI C, MARDER M, ROGUIN L

IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET

En un trabajo previo demostramos la acción antimitogénica de varios flavonoides naturales y sintéticos sobre el crecimiento de células provenientes de un carcinoma cervical humano (WISH). Con el propósito de caracterizar el modo de acción de los compuestos más activos determinamos la inhibición del crecimiento celular luego de 24, 48 y 72 horas de incubación en presencia de una concentración 20 µM de diferentes flavonoides. Mientras que el honokiol (IC50=16µM) y la crisina (IC50=45µM) detuvieron la proliferación sin modificar el número total de células, la 2'-nitroflavona y la 2',6-dinitroflavona disminuyeron significativamente la cantidad de células viables después de un tiempo de incubación mayor a 24 h. Los derivados nitrados en posición 2' se comportaron como agentes antiproliferativos en otras líneas tumorales humanas, siendo los valores de IC50 semejantes (3-4µM) en células WISH, KB (carcinoma faríngeo) y HeLa (carcinoma cervical). Un comportamiento diferente se obtuvo para los compuestos naturales, siendo los más activos el honokiol en células WISH y la crisina en células HeLa, con valores de IC50=15µM en ambos casos. Los resultados obtenidos muestran la diferente susceptibilidad de líneas epiteliales humanas a la acción citostática ejercida por algunos flavonoides naturales. Entre los compuestos sintéticos, la importante actividad antiproliferativa de los 2'-nitroderivados de flavona sugiere la utilidad potencial de los mismos como agentes de uso terapéutico.

- 562. (796) EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTITUMORAL Y LA TOXICIDAD DE LA CICLOFOSFAMIDA (CY) ADMINISTRADA CRÓNICAMENTE EN DOSIS BAJAS, EN UN MODELO DE SARCOMA DE RATA.** SÁNCHEZ ANDREA M., ROZADOS Viviana, BERRA Héctor, GERVASONI Silvia, MATAR Pablo, SCHAROVSKY Graciela.

Inst. Genética Exp. Fac. Cs. Médicas U.N.R., Rosario. SAM y RV contribuyeron igualmente en este trabajo

La Cy es ampliamente utilizada en terapia antitumoral. Se administra en dosis altas y ciclos repetidos. El efecto antitumoral se acompaña de toxicidad hematológica, cardíaca y/o renal. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto antitumoral y la toxicidad de la administración crónica de dosis bajas de Cy en ratas portadoras de un sarcoma. Ratas m desafiadas con sarcoma E-100 en el día 0, se dividieron en 2 grupos: I) no recibió otro tratamiento y II) recibió, 3 veces/semana, Cy (5 mg/kg) desde día el 7 hasta ~ día 30. Se evaluó tamaño tumoral, peso corporal y ECG, y se determinó hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), glóbulos blancos (GB), fórmula leucocitaria y concentración sérica de urea, GOT, LDH y CPK en los días 0, 20, 60 y 110. El volumen tumoral (media ± ES) y el % de ratas sin tumor en el día 20 fue menor en II [0,5 ± 0.3 mm³; 83.3% (10/12)] que en I [25329 ± 2918 mm³; 0% (0/12)] (p<0.0001). No se observaron modificaciones en peso corporal y en el ECG. La concentración de urea, GOT, LDH y CPK indicó falta de toxicidad renal y cardíaca; los aumentos de urea, GOT, LDH y CPK durante el crecimiento tumoral remitieron parcial o totalmente en el grupo II. El valor de Hto, Hb no se alteró y el aumento de GB fue moderado por el tratamiento. La adminis-

tración crónica de Cy en dosis bajas anula el crecimiento de un sarcoma de rata y carece de toxicidad renal, cardíaca y hematológica. Este esquema terapéutico podría tener relevancia en el tratamiento de tumores humanos.

- 563. (820) INTERACCIÓN ENTRE EL SISTEMA DEL GEN SUICIDA/ PRODRUGA HSV-TK/GCV Y DROGAS ONCOLÓGICAS DE USO CLÍNICO.** POWAZNIAK YANINA, CASAIIS Cecilia, FISZMAN Gabriel, GLIKIN Gerardo, FINOCCHIARO Liliana, KARARA Armando.

Unidad de Transferencia Genética, Instituto Angel H. Roffo, Universidad de Buenos Aires Unidad de Transferencia Genética, Instituto de Oncología Angel H. Roffo, Universidad de Buenos Aires

Para la terapia génica del cáncer uno de los sistemas más utilizados es el del gen suicida timidina kinasa herpética (HSV-tk) / ganciclovir (GCV). La quimioterapia antineoplásica tiende a la utilización de multidrogos vs. monodrogas. Estudiamos la interacción del sistema HSV-tk con quimioterápicos clásicos en cultivos de células priMarias derivadas de dos adenocarcinomas murinos: LM3 (glándula maMaría) y P07 (pulmón). Las células se lipofectaron con pCMV-tk y se ensayó la citotoxicidad in vitro con concentraciones crecientes de GCV (10((-2)) ug/ml a 10((3)) ug/ml), y taxol (10((-9)) M a 10((-6)) M) por 5 días. La sensibilidad celular a las drogas, fue cuantificada con MTS y por evaluación microscópica de células apoptóticas mediante tinción con naranja de acridina. Para los estudios combinados se utilizaron dosis subóptimas (LD80 a LD50) de taxol, con distintas dosis de GCV. Los resultados se expresaron como índices (relación efectos drogas individuales vs. combinadas). Valores entre 0 y 1 indican aditividad, y mayores a 1 sinergismo. Los resultados obtenidos fueron: para taxol 3x10((-8)) 0,74±0,20 y 0,90±0,27 y para taxol 5x10((-8)) 0,78±0,10 y 0,70±0,07 para P07 y LM3 respectivamente. Además se presentarán resultados con otras drogas (irinotecan, vincristina y doxorubicina). Nuestros resultados in vitro indican aditividad del taxol con el sistema HSV-tk /GCV. La terapia combinada permitiría alcanzar un mismo efecto terapéutico a dosis subóptimas de cada droga.

- 564. (828) EXPRESIÓN DE HSP25 Y 70 EN TUMORES DE ROEDORES TRATADOS CON LOVASTATIN (LOV) Y DOXORRUBICINA (DOX).** ROZADOS VIVIANA R, ¹, CIOCCA Daniel², CUELLO CARRIÓN Darío², GERVASONI Silvia¹, MATAR Pablo¹, SCHAROVSKY Graciela¹.

Inst. Genética Exp. Fac. Cs. Médicas, U.N.R., Rosario, ² Instituto de Biología y Medicina Experimental, CRICYT, CONICET, Mendoza

Hsp27 y 70 se relacionan con resistencia a drogas en cáncer de mama humano. Nuestro objetivo fue estudiar la expresión de Hsp25 y 70 en un carcinoma de mama de ratón (M-406), y un sarcoma (S-E100) y linfoma (L-TACB) de rata tratados con LOV y DOX. Animales portadores de M-406, S-E100 o L-TACB se dividieron en: I) Testigo, II) Tratado c/LOV, 25mg/kg desde día 5, 7 ó 0 respectivamente, 3 veces/semana, III) Tratado c/DOX, 1, 2 ó 0.25 mg/kg respectivamente, 2 veces/semana y IV) Tratado c/LOV + DOX, idem II + III. Se midió el volumen tumoral y se estudió expresión de Hsp25 y 70 (Inmunohistoquímica) y apoptosis (Método TUNEL y morfológico). El volumen tumoral en el grupo IV comparado con el I, fue menor para L-TACB (NS) y para M-406 (p<0.05). Hsp25 se expresó en los 4 grupos de M-406 y S-E100, con aumento en grupo IV de S-E100 con respecto al I (p<0,05), y estuvo ausente en L-TACB. Hsp 70 se expresó en todos los tumores y grupos, con aumento en el grupo IV del S-E100 con respecto al I (p<0.05). Ambas Hsp se expresaron con distintas ubicaciones subcelulares en los tres tumores. Comparada con el grupo I la apoptosis aumentó, para M-406 en los tumores de los grupos II y III y IV y para L-TACB y S-E100 en los grupos III y IV (p<0,05). Cada tipo tumoral presenta un patrón particular de expresión de Hsp25 y 70 y en el sarcoma, sin respuesta al tratamiento, estarían implicadas en la resistencia a drogas. Se obser-

vó relación directa entre efectividad del tratamiento y grado de apoptosis.

- 565. (842) EFECTO PROMOTOR DEL HEXACLOROBENCENO EN LA CARCINOGENESIS DE LA GLANDULA MAMARIA EN RATA.** RANDI ANDREA, COCCA Claudia, NUÑEZ Mariel, CROCI Máximo, BERGOC Rosa, KLEIMAN Diana.

Departamento de bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires Laboratorio de Radioisótopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

El hexaclorobenceno (HCB) es un fungicida organoclorado, asociado potencialmente al desarrollo de cáncer de mama. La actividad de quinasas de tirosina (PTKs) es un parámetro de prognosis en esta patología. Se evaluará el efecto promotor del HCB en la formación de tumores de mama inducidos por N-Nitroso-N-Metilurea (NMU) en ratas. Se usaron 4 grupos: 1) NMU (50 mg/1kg p.c.) ip a los 50, 80, y 110 días de vida. 2) HCB (100 mg/1 kg p.c.) durante 42 días a partir de los 65 días de vida; 3) HCB+NMU, tratado como 1+2; 4) Control, con vehículo. Resultados: Período de Latencia (PL), Número de tumores/rata (n/r) e Incidencia Tumoral (IT) fueron, NMU y HCB+NMU, respectivamente: PL (días) = $89 \pm 1,2$ y $81 \pm 5,5$ ($p < 0,04$); $n/r = 3,0 \pm 1,2$ y $8,2 \pm 3,2$ ($p < 0,02$); IT (%) = 50 y 100% ($p < 0,0001$). La observación al m.o. de cortes histológicos de los tumores mostró siempre adenocarcinomas cribriformes o papilares. Los tumores HCB+NMU mostraron intensa reacción inflamatoria y elevada cantidad de mitosis y anisocariosis. Los hígados de ratas intoxicadas con HCB tenían infiltrado de leucocitos polimorfonucleares de ubicación portal y microvacuolización de los hepatocitos. La actividad de PTK microsomal fué $80,12 \pm 27,82$ y $30,90 \pm 16,87$ pmol/min.mg ($p < 0,02$) en ratas NMU y NMU+HCB. La PTK citosólica no se modificó por el HCB. Conclusión: el HCB tiene efecto promotor sobre la carcinogénesis maMaría inducida por NMU. El mecanismo de acción involucra señales de transducción de receptores con actividad de PTK.

- 566. (845) MARCADORES DE PRONÓSTICO EN GLIOMAS MALIGNOS.** RANUNCOLO STELLA MARIS, VARELA Mirta, MORANDI Ana, PALLOTTA Guadalupe, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa, PURICELLI Lydia.

Instituto de Oncología "Angel H. Roffo" Servicio de Oncología Médica y Servicio de Patología del Hospital Italiano de Buenos Aires

Los astrocitomas comprenden una variedad de tumores de comportamiento biológico diverso. Se estudió la expresión de PDGFR, EGFR, p53, DCC, p16, y MDM2 en 103 gliomas de distinto grado de malignidad [astrocitoma de bajo grado (ABG), astrocitoma anaplásico (AA) y glioblastoma multiforme (GBM)]. Además, se analizó la fracción de crecimiento y sobrevida celular mediante Ki-67 y bcl-2. Los datos obtenidos fueron correlacionados con edad, sexo, sobrevida global (SG) y grado histológico. Se observó una correlación positiva entre expresión elevada de PDGFR (30% GBM vs 10% AA y ABG $p < 0,05$), la presencia de p53 mutado (76% GBM, 67% AA y 38% ABG $p < 0,01$) y el número de células en ciclo (82% GBM, 61% AA y 43% ABG $p < 0,01$) con el grado histológico. La asociación positiva entre p53 y Ki-67 y el grado de malignidad histológica se mantuvo cuando las variables de pronóstico fueron consideradas en un análisis multivariado. Si bien la pérdida de expresión de p16 y los niveles elevados de bcl-2, mostraron correlación con el grado histológico, ésta no resultó estadísticamente significativa. Se observó que niveles altos de expresión de EGFR y MDM2 sumado a la presencia de p16 se asocian significativamente con un tiempo de SG menor (análisis de Cox) pudiendo ser considerados como marcadores de pronóstico independientes. Nuestros resultados indican que la sobreexpresión de EGFR y MDM2 y la presencia de p16 pueden ser útiles para caracterizar gliomas con un comportamiento más agresivo.

- 567. (862) RELEVANCIA DEL CLONADO E IDENTIFICACIÓN DE SITIOS DE INSERCIÓN DEL VIRUS DEL TUMOR MAMARIO MURINO (MMTV) CIRIO MARÍA CECILIA, GATTELLI Albana, MARTINEZ Natalia, CASTILLA Lucio H., KORDON Edith.**

ILEX-CONICET. Instituto de Investigaciones Hematológicas. Academia Nacional de Medicina University of Massachusetts Medical School (UMAS).

Hemos mostrado anteriormente que la progresión del fenotipo hormono-independiente (HI) en nuestro modelo se ve asociada a la aparición de nuevas inserciones de MMTV que no eran aparentes por análisis de Southern blot en los tumores hormono-dependientes (HD) originales. En el caso de un tumor HI que progresó a este fenotipo espontáneamente, se clonó por la técnica de PCR inverso (I-PCR) una inserción viral en el gen de la integrina b1. Por PCR se confirmó que esta inserción estaba presente tanto en los tumores HI que presentaban la banda de Southern blot correspondiente, así como en poblaciones minoritarias de los pasajes HD en los que no se detectaban tales bandas. Esta inserción no aparecía, sin embargo, en tumores HI que provenían de un pasaje HD que permaneció dormido durante más de 5 meses en una hembra virgen. Por otro lado, se clonó (por IPCR) una inserción en el gen Int2/Fgf3 en un tumor HI que se originó de un pasaje que atravesó un largo período de latencia. En este caso hallamos que dicha inserción no estaba presente en el tumor HD original ni en otras variantes HI sino solamente en aquellos tumores que se habían originados a partir de pasajes que atravesaron períodos de latencia similares. El clonado de loci en los cuales se ha insertado el MMTV además de permitirnos hallar nuevas mutaciones relevantes en la oncogénesis maMaría, es un excelente método para evaluar mecanismos de progresión tumoral a través del seguimiento de poblaciones celulares tumorales.

- 568. (957) EL GLIPICANO 3 (GPC3) MODULA LAS PROPIEDADES DE ADHESION DE CELULAS TUMORALES MAMARIAS MURINAS.** PETERS MARÍA GISELE, FARIAS Eduardo, PURICELLI Lydia, FILMUS Jorge, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa.

Instituto de Oncología "A.H. Roffo" Cancer Research Division. University of Toronto Mount Sinai School of Medicine, New York University

La glándula maMaría es uno de los pocos tejidos del adulto donde persiste la expresión del glipicano 3 (GPC3). Previamente, se demostró que la reexpresión de GPC3, en la línea de adenocarcinoma mamario murino, induce tumores menos invasivos y metastásicos que los originados por la línea transfectada con el vector vacío (LM3-V). En este trabajo nos propusimos estudiar in vitro las propiedades adhesivas de estas células transfectadas. Se demostró así que LM3-GPC3 posee mayor adhesión a fibronectina que LM3-V ($73,5 \pm 13,9$ vs. $40,2 \pm 9,3\%$, $p < 0,05$). Por otro lado, en un ensayo de crecimiento en suspensión, las células control se mantuvieron separadas o formaron pequeños grupos, evidenciándose muerte celular. Sin embargo, las células LM3-GPC3 mostraron una alta adhesión homotípica (grupos mayores de 50 células), siendo capaces de sobrevivir y proliferar. Mediante IHQ y WB se estudió la expresión de moléculas de adhesión, estableciéndose que LM3-GPC3 posee mayor expresión de cadherina E, β -catenina y CD44, aunque no se encontraron diferencias en $\beta 1$ integrina. Asociada a la mayor capacidad de adhesión de las células LM3-GPC3, encontramos una inhibición del 37% de su capacidad migratoria ($p < 0,05$), medida en un ensayo de herida en monocapa. Estos resultados indican que uno de los mecanismos por los que GPC3 modifica el fenotipo invasivo/metastásico de células tumorales maMarías podría involucrar la alteración de sus propiedades de adhesión.

- 569. (963) ACTIVACION DE LA ENZIMA TELOMERASA DURANTE INFECCIONES PRODUCTIVAS Y TRANSFORMANTES DE LA GLANDULA MAMARIA MURINA POR VIRUS POLIOMA.** OTERO JAVIER, SANJUAN Norberto.

Laboratorio de Patología Experimental. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, UBA.

La Telomerasa es una ribonucleoproteína que sintetiza el DNA telomérico. Se ha hallado su actividad en la mayoría de los tejidos neoplásicos y se ha propuesto que su expresión es esencial para la inmortalización celular durante la tumorigénesis. En modelos in vivo e in vitro de oncogénesis viral se ha reportado que la activación de esta enzima es producto de la actividad de los distintos oncogenes virales. Para estudiar el papel de los genes tempranos del virus poliooma en la activación de esta enzima se determinó la actividad de la misma en infecciones productivas por virus poliooma de glándulas mamarias y en adenocarcinomas de mama inducidos en ratones C3H BiDa por el mismo virus. La presencia de antígenos del virus en los tumores y en las glándulas mamarias infectadas productivamente fue determinada por western blot. La actividad de la enzima Telomerasa se determinó mediante el ensayo TRAP, no evidenciándose actividad de la misma en el tejido mamario normal ni tampoco en las glándulas mamarias 8 días post-infección. En cambio, en las neoplasias de mama la actividad Telomerasa se detectó incluso en una dilución 100 veces mayor que la utilizada en los otros tejidos. Estos resultados sugieren que la sola presencia de los oncogenes virales que se expresan tanto en infecciones productivas como transformantes no es suficiente para la inducción de esta enzima. Se concluye que la actividad Telomerasa sería un evento tardío e indirecto de la tumorigénesis por virus poliooma.

- 570. (973) EFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN DE PKCZ SOBRE EL COMPORTAMIENTO CELULAR IN VITRO DE CÉLULAS MARIAS MURINAS NORMALES (NMUMG): ASOCIACIÓN CON TRANSFORMACIÓN MALIGNA.** URTREGER ALEJANDRO, GROSSONI Valeria, BAL DE KIER JOFFÉ Elisa.

Area Investigación. Instituto de Oncología "A. H. Roffo"

La PKCz es una isoforma atípica (no estimable por calcio ni DAG) de la familia de PKC. Anteriormente se transfectaron células NMUMG con PKCz, observándose un incremento en la adhesividad y una entrada temprana en el ciclo proliferativo. En este trabajo nos proponemos estudiar si PKCz modula otras funciones celulares asociadas al fenotipo maligno. Las células PKCz presentaron mayor clonogenicidad ($29,7 \pm 3\%$ vs $18,4 \pm 5\%$ NMUMG control). También mostraron un aumento en la secreción de las proteasas uPA y MMPs (en U/mg prot.: $9,9 \pm 3,2$ vs $1,8 \pm 0,1$ y $6,9 \pm 0,01$ vs $1,3 \pm 0,1$, en NMUMG control). Ni NMUMG-PKCz ni NMUMG-vector formaron colonias en agar blando. Para determinar qué dominios de PKCz son responsables de los cambios observados se realizaron transfecciones con 4 mutantes con diferentes deleciones en los dominios regulatorio y catalítico. Sólo la expresión de PKCz-ZN (carente de regiones V1 y PS) indujo un aumento de uPA similar al inducido por PKCz-wt ($10,8 \pm 1,6$ U/mg prot). En cambio, sólo PKCz-V3 (sin regiones V1, PS y CR) produjo un aumento de MMPs similar al de PKCz-wt ($5,5 \pm 1,2$ U/mg prot). En conclusión, si bien la expresión de PKCz aumentó la clonogenicidad y la secreción de proteasas, los cambios no fueron suficientes para inducir la transformación in vitro de las células NMUMG. Además, los resultados sugieren que el dominio catalítico es necesario para el aumento de ambas proteasas pero que serían reguladas por distintas secuencias del dominio regulatorio.

- 571. (1124) EFECTO ANTITUMORAL IN VIVO E IN VITRO DE LA GLIBENCLAMIDA.** COCCA CLAUDIA, NUÑEZ Mariel, MARTIN Gabriela, GUTIERREZ Alicia, CRICCO Graciela, CROCI Maximo, RIVERA Elena, BERGOC Rosa.

Laboratorio de Radioisotopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

Observaciones clínicas indican que pacientes diabéticas portadoras de tumor mamario tratadas con hipoglucemiantes orales responden mejor a la terapia con el antiestrógeno tamoxifeno (Tam) que las no diabéticas. El objetivo de este trabajo fue estudiar in vivo e in vitro el posible efecto antitumoral del hipoglucemiante oral glibenclamida (Gli). In vivo se trabajó con tres lotes ($n = 10$ cada uno) de ratas Sprague-Dawley portadoras de

tumor mamario inducido por N-nitroso-N-metilurea (NMU) y un lote control sin tumor ($n = 10$). A partir de que los tumores alcanzaron 0,6 cm de diámetro, un lote fue tratado con 0,6 mg/Kg/día de Gli por vía oral (lote NMU+Gli); otro con 1 mg/Kg/día de Tam por vía sc (NMU+Tam); otro fue tratado con solución fisiológica (NMU). El lote control se trató con Gli. Después de 20 días de tratamiento, los porcentajes de regresión-estabilización tumoral resultaron: NMU=0%, NMU+Gli=64%, NMU+Tam=57% ($p < 0,001$ versus NMU, Fisher test). La dosis de Gli empleada no alteró las curvas de tolerancia a la glucosa en los lotes tratados. Los estudios in vitro en células MCF-7 empleando el método clonogénico mostraron una inhibición dosis dependiente en presencia de Gli con una $EC_{50} = 50 \mu M$. La adición de Tam 0,25 y 0,50 μM produjo un efecto aditivo en la inhibición de la proliferación ($p < 0,01$, ANOVA test). Concluimos que la Gli tiene un efecto inhibitorio sobre la proliferación de células mamarias transformadas tanto in vivo como in vitro.

- 572. (1169) INDUCCIÓN DEL PROMOTOR DE CITOMEGALOVIRUS CMV EN LINFOMAS T MURINOS.** RUYBAL PAULA, PERIOLI Natalia, BARCALA Virna, GRAVISACO Maria José, CREMASCHI Graciela, WALDNER Claudia, MONGINI Claudia.

CEFYBO CEFYBO-CONICET CITOMLAB-HOSPITAL ITALIANO DE BUENOS AIRES

Este trabajo evalúa el efecto del PMA y la Ionomicina en la proliferación celular y en la inducción del promotor viral CMV en los linfomas murinos LBC; EL-4 y BW5147. Las células fueron transfectadas por electroporación con el plásmido pQBI25 que codifica para la GFP. El efecto del PMA sobre la proliferación celular se midió por el método de reducción del MTT. Las células tumorales LBC, LBC-GFP, EL-4, BW5147 fueron incubadas durante 20 h con Ionomicina (0,25 y 0,5 μM), PMA (5-20 ng/ml) y diferentes combinaciones. Se observó un aumento significativo en la proliferación en todos los casos con ionomicina 0,25 μM + PMA 5 ng/ml (índice de proliferación (IP): 2,7; 4; 1,8 respectivamente) y con PMA 5 ng/ml (IP: 1,8; 3,6; 2,1; 1,9; respectivamente), respecto al control. En los experimentos de inducción del promotor CMV, se observó un aumento significativo en la expresión de GFP respecto al control en células LBC, EL-4 pero no en la línea BW5147 incubadas con 10 ng/ml PMA con o sin Ionomicina 0,5 μM durante 24 h, por microscopía de fluorescencia y citometría de flujo. El tratamiento con PMA aumentó la proliferación de las tres líneas tumorales e indujo la expresión de la GFP en las células EL-4 y LBC. Las líneas derivadas de LT poseen en general baja eficiencia de transfección y el promotor CMV (comúnmente utilizado en vectores eucariota) es de baja expresión en estas líneas, el tratamiento con PMA sería una herramienta importante para obtener una mayor expresión del transgen.

REPRODUCCIÓN V

- 573. (524) ACTIVIDAD DE LA METALOPROTEASA 2 EN EL FETO DE RATA SANA Y DIABÉTICA PUSTOVHR.** MARÍA CAROLINA, JAWERBAUM Alicia, SINNER Debora, WHITE Veronica, CAPOBIANCO Evangelina, GONZALEZ Elida.

LABORATORIO DE REPRODUCCION Y METABOLISMO-Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos-CONICET

Las metaloproteasas (MMPs) degradan la matriz extracelular participando en procesos de remodelación tisular, como la cardiogénesis y la neurulación embrionaria. Con objeto de evaluar las alteraciones de MMP2 en embriones de madres diabéticas, se analiza su actividad y la posible acción moduladora de óxido nítrico (NO) y especies reactivas del oxígeno (ROS). Metodología: En fetos de 14 días de ratas sanas (FC) y diabéticas (por administración neonatal de estreptozotocina) (FD) se determina la actividad gelatinásica (por zimografía) y los niveles tisulares de NO (como Nitratos/Nitritos por reacción de Griess). Resultados: Los niveles de NO (nmol/mg proteína) son mayores en FD ($1,2 \pm 0,4$) que en FC ($5,5 \pm 0,7$, $p < 0,002$) al igual que la actividad MMP2 (FD: $1,3 \pm 0,06$, FC: $1 \pm 0,04$, $p < 0,05$). Dadores de NO (Nitroprusiato de sodio

600 μM) elevan la actividad MMP2 en FC (1.74 ± 0.25 , $p < 0.01$) pero no en FD. La inhibición de la síntesis de NO (L-NAME 600 μM), disminuye la actividad MMP2 en FC (0.73 ± 0.08) y en FD (1 ± 0.02) ($p < 0.05$). El peróxido de hidrógeno eleva la actividad de MMP2 en FC (1.53 ± 0.31 , $p < 0.05$) pero no en FD, mientras que superóxido dismutasa (antioxidante) disminuye la actividad MMP2 en FC (0.81 ± 0.06) y en FD (0.91 ± 0.03) ($p < 0.05$). La actividad MMP2 está incrementada en embriones de rata diabética. El NO, cuya producción está elevada en embriones diabéticos, estimula la actividad MMP2, al igual que las especies reactivas de oxígeno. Financiado por Re-entry Grant PLACIRH

- 574. (557) 15DEOXY-DELTA 12,14 PROSTAGLANDINA J2 (PGJ) MODULA LOS NIVELES DE ÓXIDO NITRICO Y EL METABOLISMO LI-PÍDICO EN EL EMBRIÓN DE RATA DURANTE LA ORGANOGÉNESIS POR MECANISMOS INDEPENDIENTES DE PPARGAMMA** JAWERBAUM ALICIA, SINNER Debora, WHITE Verónica, PUSTOVHR Carolina, CAPOBIANCO Evangelina, GONZALEZ Elida.

Laboratorio de Reproducción y Metabolismo. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Buenos Aires

PGJ, potente antiinflamatorio y modulador del metabolismo lipídico, actúa por mecanismos dependientes o no del receptor nuclear PPARgamma. Objetivo: Evaluar si PGJ modula los niveles de NO y de lípidos en el embrión de rata durante la organogénesis y si PPARgamma media los efectos observados. Métodos: Embriones de rata se explantan en el día 10.5 de gesta para determinar A) los niveles de PGJ (EIA), B) si PGJ(2.10((-6))M) modula los niveles de nitros/nitritos (índice de la producción de NO), C) si PGJ 2.10((-6))M, BADGE 100 μM (antagonista de PPARgamma) y PGJ+BADGE modulan la síntesis de lípidos a partir de ((14))C-acetato (TLC) y D) expresión de PPARgamma (western blot). Resultados: Se detecta PGJ, 22 ± 3 pg/ μg en esta etapa del desarrollo. Los niveles de nitros/nitritos (nmol/ μg) disminuyen en presencia de PGJ (C: 48 ± 3 , C+PGJ 38 ± 2 $p < 0.02$). La adición de PGJ disminuye la incorporación de ((14C))acetato (cpm/ μg) a colesterol (C: 2.4 ± 0.4 , C+PGJ 1 ± 0.1 $p < 0.01$), a triglicéridos (C: 9.2 ± 0.8 C+PGJ: 3.2 ± 0.3 , $p < 0.001$) y a ésteres de colesterol (C: 2.2 ± 0.2 , C+PGJ: 0.7 ± 0.1 $p < 0.001$). La adición de BADGE no modifica la síntesis lipídica per se, ni altera el efecto producido por PGJ. No se detecta expresión de PPARgamma en el embrión de 10.5 días de gesta, y sí a partir del día 13 de gestación. El embrión de rata produce PGJ durante la organogénesis temprana, prostanoides que mediante efectos independientes a PPARgamma modula los niveles de óxido nítrico y el metabolismo lipídico embrionario

- 575. (561) NIVELES DE LEPTINA Y SU EFECTO MODULADOR SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NITRICO Y LÍPIDOS EN PLACENTA DE RATA SANA Y DIABÉTICA.** WHITE VERÓNICA, JAWERBAUM Alicia, SINNER Debora, CAPOBIANCO Evangelina, PUSTOVHR Carolina, GONZALEZ Elida.

Laboratorio de Reproducción y Metabolismo. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos. CONICET.

Los niveles de leptina (LEP) se incrementan a lo largo de la gesta, en parte debido a la importante producción placentaria. Objetivo: Dosar los niveles de LEP y evaluar su función moduladora sobre la generación de óxido nítrico (NO) y metabolismo lipídico en placenta de rata sana (C) y diabética obtenida por administración neonatal de estreptozotocina (D). Metodología: Tejido placentario de día 21 de gesta se incubó 3h en presencia o no de LEP 10-500 ng/ml y se evaluó producción de LEP por EIA, los niveles de nitros/nitritos (índice de la producción de NO, reacción de Griess), la actividad óxido nítrico sintasa (NOS, radioconversión de ((14))C-arginina a ((14))C-citrulina) y los niveles lipídicos (TLC). Resultados: Los niveles de LEP (pg/g) están disminuidos ($p < 0.01$) en D (33 ± 3) en relación a C (48 ± 4). Adiciones de LEP estimulan la producción de nitros/nitritos (nmol/mg) en C y en D ($p < 0.001$) (C: 21 ± 2 , C+LEP: 39 ± 2 , D: 17 ± 1 , D+LEP 39 ± 4) e incrementa la actividad NOS (pg/ml.min.mg) $p < 0.01$ (C: 23 ± 1.3 , C+LEP: 31 ± 2 , D: 24 ± 2 , D+LEP: 37 ± 2.9). La adición de LEP disminuye los niveles de lípidos neutros y polares ($\mu\text{g}/\text{mg}$) en C, $p < 0.01$, fosfolípidos C: 130 ± 18 , C+LEP: 62 ± 12 ; triglicéridos C: 82 ± 14 , C+LEP: 37 ± 5 ; colesterol C: 84 ± 11 C+lep: 47 ± 3 ; y de fosfolípidos en D ($p < 0.05$), D: 122 ± 25 , D+LEP: 52 ± 17 . Existen anomalías en la produc-

ción de LEP en placenta de rata diabética. En placenta sana y diabética LEP es un modulador positivo de la producción de NO y regulador del contenido lipídico.

- 576. (666) EL HIPERTIROIDISMO MODULA LA EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA INVOLUCIÓN DE LA GLÁNDULA MAMARIA DE RATAS LACTANTES.** VARAS SILVIA M., HAPÓN Belén, GIMÉNEZ Sofía, JAHN Graciela.

Laboratorio Bioquímica Molecular. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Univ. Nac. San Luis Lab. de Bioqca Mol. UNSL. San Luis. Laboratorio de Reproducción y Lactancia, CRICYT-CONICET, Mendoza

Anteriormente demostramos que el hipertiroidismo (HT) inhibe la producción láctea a pesar de la activa succión de las crías, asociado con un aumento de células TUNEL (+) en el día 21 de lactancia y disminución de los niveles de Prl. El objetivo de nuestro trabajo es estudiar el efecto del HT sobre la expresión de distintas proteínas pro o anti-apoptóticas en glándula maMaría en día 14 (L14) y 21 de lactancia (L21), para lo que se midieron los niveles de RNAm de BCL2, SGP2, IGF1 e IGFBP-5 en relación a la proteína ribosomal L19, mediante RT-PCR semicuantitativa. Se observó un aumento en la expresión de SGP-2, un gen que es expresado durante la involución de la glándula maMaría, en L14 (HT: 0.17 ± 0.04 vs Co: 0.05 ± 0.01) y L21 (HT: 0.45 ± 0.06 vs Co: 0.26 ± 0.04); a pesar que la proteína proapoptótica IGF-BP5 no se modificó. El factor de supervivencia Bcl2 tampoco fue modificado a pesar que IGF-I, también anti-apoptótica, que cayó en los controles en L21 (L14: 1.03 ± 0.22 , L21: 0.32 ± 0.05) no lo hizo en las ratas HT (L14: 1.03 ± 0.17 ; L21: 0.94 ± 0.09), quedando así, significativamente más elevado en L21 en estas madres. Estos resultados sugieren que el HT produce un inicio precoz de la involución maMaría (Estadio I), pero posiblemente la activa succión por parte de las crías frena dicha regresión, manteniendo la expresión de proteínas anti-apoptóticas e impidiendo que llegue al estadio II de regresión en el cual se produce la regresión irreversible de la glándula maMaría.

- 577. (795) EL SISTEMA ACTIVINA (ACT)/FOLISTATINA (FOL) EN LA PROLIFERACION Y DIFERENCIACION DE LA GLANDULA MAMARIA DE LA RATA.** BUSSMANN URSULA, LANUZA Guillermo, BUSSMANN Leonardo.

Instituto de Biología y Medicina Experimental. CONICET

En ratones la Act es esencial para la lactancia, mientras que en líneas celulares maMarías inhibe la proliferación. Para estudiar estas acciones contrapuestas en el desarrollo y diferenciación de la glándula maMaría se analizó su acción mitogénica por incorporación de timidina y su efecto en la expresión del gen de β caseína por Northern en acinos aislados (Ac) en distintos estadios reproductivos. En el primer caso se encontró un máximo de inhibición (68% $P < 0.05$) a dosis de 500 ng/ml en ratas ovariectomizadas en el día 19 de preñez. Esta dosis inhibió la expresión de β caseína en ratas en día 19 de preñez (49% $P < 0.01$). Un análisis de la expresión de receptores de Act Ia, IIa y IIb por RT-PCR relativa demostró que en estos estadios hay una disminución del tipo IIa comparado con ratas vírgenes en mama total (MT) y en Ac: MT 0.9 vs 1.9 $P < 0.001$, Ac 0.57 vs 1.69 $P < 0.05$. El análisis por Northern de los mRNA para inhibina β B (monómero de Act) y Fol (proteína que une Act) reveló una mayor expresión de la primera en Ac y en MT de ratas vírgenes y en principio de preñez. En estos mismos estadios fue mayor la expresión de Fol, pero solo en Ac (3.6 vs 0.48 $P < 0.001$). La Act, imprescindible para la normal morfogénesis, posee acciones antiproliferativas e inhibitorias de la diferenciación maMaría. Estos efectos opuestos no son excluyentes debido a una expresión concertada en el tiempo y espacio de Act, sus receptores y Fol, formando esta última una barrera que previene su acción en los Ac.

- 578. (893) RELEVANCIA DE LA PROTEINA EPIDIDIMARIA "ARP" PARA LA FERTILIDAD HUMANA I: ESTUDIOS DE INMUNIZACION EN PRIMATES NO HUMANOS.** ELLERMAN DIEGO, DA ROS Vanina, BUSSO Dolores, MORGENFELD Mauro, *TOLLNER Ted, *OVERSTREET James, CUASNICU Patricia.

*Instituto de Biología y Medicina Experimental, *California Regional Primate Center, UC, Davis, USA*

Recientes evidencias indican que la proteína epididimaria humana ARP, al igual que su homólogo en la rata (DE), participa en el proceso de fertilización. Con el fin de examinar la relevancia de ARP para la fertilidad humana, decidimos realizar estudios de inmunización en un modelo de primates no humanos. El objetivo de este trabajo consistió en examinar si la proteína recombinante humana (hARP) era capaz de generar una respuesta inmune en el mono. Estudios de Western blot e inmunofluorescencia sobre extractos epididimarios y espermatozoides de mono, respectivamente, indicaron que los anticuerpos anti-hARP eran capaces de reconocer a ARP de mono nativa. El siguiente paso consistió en la inmunización de hembras y machos *M. fascicularis* con hARP (acoplada a maltose binding protein, MBP) y MBP como control (200µg, 4 veces cada 25 días). La respuesta inmune contra hARP se evaluó en función del tiempo por ELISA bajo condiciones que permiten la captura de anti-MBP. Los resultados indicaron la presencia de una respuesta inmune creciente en función del tiempo en animales inyectados con hARP y la ausencia de anticuerpos anti-hARP en sueros preinmunes y control. Ensayos de ELISA confirmaron la presencia de cantidades similares de anti-MBP en sueros de ambos grupos. Estos resultados indican que hARP es capaz de generar una respuesta inmune en primates no humanos de ambos sexos, pudiendo ser empleada para futuros estudios sobre la relevancia de ARP para la fertilidad humana.

- 579. (896) RELEVANCIA DE LA PROTEINA EPIDIDIMARIA "ARP" PARA LA FERTILIDAD HUMANA II: CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE OBTENIDA POR INMUNIZACIÓN DE PRIMATES NO HUMANOS.** ELLERMAN DIEGO, DA ROS Vanina, BUSSO Dolores, MORGENFELD Mauro, *TOLLNER Ted, *OVERSTREET James, CUASNICU Patricia.

*Instituto de Biología y Medicina Experimental, *California Regional Primate Center, UC, Davis, USA*

La proteína epididimaria humana ARP participa en el proceso de fertilización. La inmunización de primates no humanos con ARP humana recombinante (hARP), es capaz de generar una respuesta inmune en ambos sexos. Con el fin de caracterizar la respuesta inmune, en primer lugar se evaluó si los sueros de animales inyectados con hARP eran capaces de reconocer a ARP de mono nativa (mARP). Para ello, proteínas de espermatozoides de mono y espermatozoides frescos fueron incubados con sueros de animales inyectados con hARP (suero inmune) o MBP (suero control) y sometidos a las técnicas de Western blot e inmunofluorescencia. Los resultados indicaron que mientras los sueros preinmune y control dieron una respuesta negativa, los sueros inmune fueron capaces de reconocer mARP tanto en los extractos (una banda específica) como en espermatozoides (marca fluorescente en acrosoma). Ensayos de ELISA utilizando ARP de mono recombinante, indicaron la presencia de anticuerpos anti-mARP en el plasma seminal de los animales inmunizados con hARP pero no así del grupo control. El número, morfología y motilidad de los espermatozoides del grupo experimental no se vieron afectados, sugiriendo la ausencia de un efecto patológico de los anticuerpos sobre la producción testicular. Estos resultados confirman la posibilidad de emplear a hARP en un modelo de primates no humanos tanto para el estudio de la relevancia de ARP como para el desarrollo de futuros métodos de regulación de la fertilidad humana.

- 580. (1057) REGULACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE INHIBINA B EN CÉLULAS DE SERTOLI EN CULTIVO.** TRIGO ROMINA VERÓNICA, PELLIZZARI Eliana, CIGORRAGA Selva, CAMPO Stella.

Centro de Investigaciones Endocrinológicas, Buenos Aires

Las inhibinas son producidas por las células de Sertoli. Previamente hemos demostrado que la producción de inhibina B (Inh B) en células de Sertoli provenientes de ratas de 8 días de vida no es estimulada por FSH. El objetivo de este trabajo fue determinar en cultivos de células de Sertoli provenientes de ratas de 20 días de vida el efecto de la FSH (0.05 a 10 ng/ml); de las células germinales (1, 2 y 3x10⁶ cel), de factores gonadales (EGF; TGF-β; NGF; activina A) e insulina sobre la producción de Inh B. Se observó un estímulo de la producción de Inh B por FSH (veces de estímulo respecto al basal: 1ng/ml: 4.4, p<0.05 y 10 ng/ml: 5.7, p<0.01). El agregado de factores de crecimiento per se no produjo efecto. La combinación de EGF+TGF-β+insulina+FSH y activina A+FSH produjo un incremento de 7.7 y 11.2 veces sobre el basal, respectivamente (p<0.001). El co-cultivo con 1x10⁶ células germinales en ausencia o presencia de FSH estimuló la producción de Inh B 2.6 veces, p<0.01 y 4.1 veces, p<0.001, respectivamente. La producción de inhibina B por la célula de Sertoli está diferencialmente regulada según el estadio de maduración de la célula: la producción en la célula inmadura (8 días) sería independientemente de FSH, una vez iniciada la maduración del epitelio seminífero, la FSH, las células germinales y la combinación de FSH con factores gonadales serían los principales reguladores de la producción de este péptido.

- 581. (1084) POLIMORFISMO DE LA FSH CIRCULANTE DURANTE LA AMENORREA DE LA LACTANCIA Y LA FASE FOLICULAR DE LOS CICLOS MENSTRUALES DESPUÉS DEL PARTO.** VELÁSQUEZ OPAZO ETHEL VIRGINIA, CREUS Silvina, CAMPO Stella, CROXATTO Horacio Bruno.

Instituto Chileno de Medicina Reproductiva Centro de Investigaciones Endocrinológicas

Durante la lactancia la actividad ovárica está suprimida en la mayoría de las mujeres y la ovulación raramente ocurre aunque las gonadotropinas alcanzan niveles inmunoreactivos (FSH-IR) normales. El objetivo de este trabajo fue determinar el polimorfismo de la FSH circulante de acuerdo al contenido de ácido siálico y a la estructura interna de las cadenas carbohidratadas (CC) durante la amenorrea y la fase folicular de los ciclos menstruales. Se analizaron individualmente sueros de 6 mujeres lactantes en amenorrea obtenidos entre los 60 - 70 días post-parto y entre los días 7 - 10 del 3er o 4º ciclo post-parto. No se encontró diferencia en los niveles de FSH-IR entre los dos períodos analizados (p= 0.303). Durante la amenorrea la proporción de FSH recuperada por isoelectroenfoco a pH ≤ 4.1 fue mayor que la encontrada en el mismo rango en fase folicular (62.5 ± 6.7 vs 39.5 ± 7.6, p<0.001) y se observó una proporción del 11.6 % de isoformas con CC incompletas, no detectadas en los ciclos. En la fase folicular se observaron solo isoformas con CC complejas, y una mayor proporción con CC altamente ramificadas (50.7 ± 5.8 vs 66.4 ± 9.0, p<0.05). Los resultados obtenidos sugieren que una FSH con mayor contenido de ácido siálico y con CC menos procesadas en las cisternas del aparato de Golgi estaría involucrada en la disminución de la actividad gonadal durante la amenorrea de la lactancia. Este proyecto fue realizado con el apoyo de ICMER, PROGRESAR y PLACIRH beca PLC 249/2000.