

Autoridades



Primeras Jornadas Bioquímicas del Sudoeste Bonaerense

“DESDE LO MOLECULAR A LA CLÍNICA”

II Taller sobre problemática del Bioquímico egresado de la UNS

COMISIÓN ORGANIZADORA

Presidente

Dr. Sixto Raúl Costamagna

Secretaria Ejecutiva

Dra. Nélica Polini

Secretaria Científica

Dra. Marta Roque

Tesorera

Dra. María Inés Prat

Comité Científico

Dra. Marta Aveldaño - Dra. Ida C. Bonini - Dra. Cecilia Bouzat - Dra. Virginia Masshehimer
Dra. Carmen Esandí - Dra. Norma Giusto - Dra. Susana Morelli - Dra. Graciela Pennacchiotti

Miembros Comité Ejecutivo

Bioq. Norma Basabe - Bioq. Andrea Bianchimano - Bioq. Adrián Campello - Bioq. Pablo Cutini
Bioq. María Cecilia D'Anna - Bioq. Viviana Randazzo - Dra. María Belén Rauschemberger
Dr. Juan Tentoni - Bioq. Tania Veuthey - Dra. Elena Visciarelli - Dra. Marisa Sandoval

Informes:

San Juan 670 - Bahía Blanca - Pcia. Buenos Aires

CP: 8000 - Tel.: (0291) 4595100 – Interno 2421

E-mail: secjorbioq@uns.edu.ar

AUSPICIOS

Municipalidad de Bahía Blanca

Honorable Concejo Deliberante

Centro de Analistas Clínicos- Distrito X

Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Buenos Aires- Zonal I

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires

Fundación Bioquímica Argentina

Asociación Parasitológica Argentina

COLABORADORES

Laboratorios ROCHE

Fundación Bioquímica Argentina

Centro de Analistas Clínicos

Wiener lab G R O U P

Biodynamics SRL

Asociación Industrial Química - Bahía Blanca (AIQBB)

Bernardo Lew e hijos

Distribuidora Uruguay S.R.L.

PRIMERAS JORNADAS BIOQUÍMICAS DEL SUDOESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
4 - 5 DE DICIEMBRE DE 2009
LUGAR: SALÓN DE ACTOS Y ANEXOS RECTORADO
AVDA. COLÓN 80, BAHÍA BLANCA, PROVINCIA DE BUENOS AIRES

PROGRAMA

VIERNES 4

8.00-9.00 horas: Acreditación. Inscripción

9.00 horas. Salón de Actos de la Sede de Rectorado

ACTO INAUGURAL

Palabras del Sr. Rector Dr. Guillermo Crapiste, de la Dra. Marta Aveldaño, Decana del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia y del Dr. Raúl Costamagna, Presidente de las Jornadas Bioquímicas.

9.30 a 10.30 horas

Conferencia Plenaria

«De un antígeno a una molécula cardio-activa y anti-parasitaria»

Dr. Mariano Levin

Investigador Superior del CONICET-INGEBI; Profesor del Área Genética Molecular y Biotecnología. Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.

10.30 a 11.00 horas: INTERVALO

11.00 a 11.45 horas

Conferencia

«Neoplasias linfoides: de la citogenética a los microarrays»

Dra. Irma Slavutsky

Investigadora del CONICET. Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Hematológicas» Mariano R. Castex», Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires.

11.45 a 12.30 horas

Conferencia

«Mecanismos celulares de tolerancia inmunológica durante el embarazo»

Dra. Ana Claudia Zenclussen

Full Professor of «Experimental Gynaecology» at the Medical University of the Otto-von-Guericke-University, Magdeburg. Guest Scientist at the Charité, Medical University of Berlin, Germany

12.30 a 13.15 horas

Conferencia

«Análisis de ADN aplicado a análisis de filiación y forenses»

Dr. Eduardo Raimondi

Servicio de Inmunogenética, Genética Forense. Fundación Favaloro. Buenos Aires.

13.15 a 15.00 horas INTERVALO

15.00 a 17.00 horas: PRESENTACIÓN DE POSTERS

17.15 a 18.00 horas

Conferencia

«Nanomedicina: cruce de barreras, tráfico intracelular y potencialidad antiparasitaria»

Dra. Eder Lidia Romero

PhD Programa de Nanomedicinas, Universidad Nacional de Quilmes.

18.00 a 18.45 horas

Conferencia

«La importancia de la metodología para determinar andrógenos en pacientes con hirsutismo»

Dr. Hugo Scaglia.

Servicio de Endocrinología del Hospital Italiano de La Plata.

18.45 a 19.30 horas COFFE BREAK

19.30 a 20.15 horas

Conferencia

«Consenso Argentino para el diagnóstico y tratamiento de Toxoplasmosis»

Dr. Federico Kaufer

Centro de Toxoplasmosis. Hospital Alemán de Buenos Aires.

20.15 a 21.00 horas

Conferencia

«Programa de Evaluación Externa de la Calidad»

Dr. Daniel Mazziotta.

Director del Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC). Federación Bioquímica Argentina.

SABADO 5

9.00 a 9.45 horas

Conferencia

«Segundos mensajeros lipídicos en terminales sinápticos de corteza cerebral. Efecto del envejecimiento.»

Dra. Norma M. Giusto

Profesora Emérita de la Universidad Nacional del Sur. Investigadora Principal de CONICET

9.45 a 10.30 horas

Conferencia

«Rol de la Asociación Bioquímica Argentina en la defensa de la Profesión»

Dra. Silvia Morilla.

Vice-Presidenta de la Asociación Bioquímica Argentina

«II TALLER: PROBLEMÁTICA DEL PROFESIONAL BIOQUÍMICO EGRESADO DE LA UNS»

10.30 a 12.30 horas

Sala de Situación

Coordina: Dra. Nélide N. Polini

Prof. del Practicanato Profesional de Bioquímica. Biología, Bioquímica y Farmacia. UNS

Panelistas:

- Marcia Pagani. Comité Técnico Ejecutivo de Bahía Blanca. (CTEBB)
- Patricia Marucci. Laboratorio de Control de Calidad Bromatológico y Microbiológico de la Cooperativa Obrera de Bahía Blanca.
- Lorena Brugnoli. Integrante de la Planta Piloto de Ingeniería Química de Bahía Blanca. UNS. CONICET.
- Patricia Barberio. Laboratorio del Hospital Municipal de agudos «Dr. Leónidas Lucero»
- Alicia Bonanno. Laboratorio Central del Hospital Interzonal «Dr. José Penna».
- Laura González. Laboratorio Castro Rendon de Neuquén.
- Patricia Aggio. Laboratorio Endocrinología y Bioquímica Médica.
- Omar Cerrone. Secretario del Centro de Analistas Clínicos. Bahía Blanca.

10.30 a 12.00 horas

MESA REDONDA

Salón de Actos

«Técnicas Moleculares aplicadas al Diagnóstico Clínico y la Investigación»

Coordina: Dra. Carmen Esandi.

Prof. de Genética. Biología, Bioquímica y Farmacia. UNS-INIBIBB.

Panelistas: Bioq. Ariel Suárez. Bioq. Pilar Corral. IACA Laboratorios. Bahía Blanca

12.00 a 12.30 horas INTERVALO

12.30 a 13.15 horas

Conferencia 10:

«Receptores de transmisión sináptica: de la estructura a la patología»

Dra. Cecilia Bouzat.

Investigadora Principal del CONICET. Prof. de Farmacología. Biología, Bioquímica y Farmacia. UNS-INIBIBB-CONICET.

13.30 horas ACTO DE CLAUSURA

CURSO PRE-JORNADAS

Paludismo: «Etiología y Diagnóstico de Laboratorio»

Teórico y Práctico

Auspicia: Centro de Analistas Clínicos Distrito X

Lugar: Salón de actos de Alem y Sala de Microscopía. Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS

Relatora: Dra. Elena Visciarelli

Cátedra de Parasitología Clínica- Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS

Horario: jueves 3 de diciembre, de 18 a 22 horas

Conferencias

CONFERENCIA PLENARIA DE UN ANTÍGENO A UNA MOLÉCULA CARDIO-ACTIVA Y ANTI-PARASITARIA

Dr. Mariano Levin.

Investigador Superior del CONICET- INGEBI. Profesor del Área Genética

Molecular y Biotecnología. Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.

La patogénesis de la enfermedad cardíaca de Chagas es motivo de debate. La presencia de parásito es difícil de documentar, aunque se detecta ADN de parásito por reacciones de amplificación génica. El estudio del repertorio de anticuerpos de pacientes sugiere que el parásito es el blanco central de la reacción humoral. Estudios experimentales en ratón indican que algunos anticuerpos contra tripanosoma pueden estimular receptores cardíacos. Su presencia en suero podría explicar aspectos de la patología cardíaca. Estudios más detallados de las características de estos anticuerpos revelan sorprendentes propiedades.

CONFERENCIA NEOPLASIAS LINFOIDES: DE LA CITOGENÉTICA A LOS MICROARRAYS

Dra. Irma Slavutsky

Dra en Medicina. Investigadora Principal CONICET. Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Hematológicas «Mariano R. Castex», Academia Nacional de Medicina

Las neoplasias linfoides constituyen un grupo heterogéneo de tumores que presentan un amplio espectro de variación desde el punto de vista clínico, morfológico, inmunofenotípico, citogenético y molecular. En los últimos años se ha visto un incremento de su incidencia a nivel mundial, particularmente de los subtipos histológicos más agresivos, encontrándose entre las más frecuentes causas de muerte. La alta complejidad que las caracteriza determina que los estudios genéticos constituyan una de las herramientas más útiles para la comprensión de su comportamiento biológico, habiendo permitido identificar alteraciones cromosómicas y rearrreglos moleculares estrechamente asociados a determinados subtipos histológicos. No obstante, su caracterización genética se encuentra muy lejos de su completa delineación, especialmente en lo que respecta a la correlación entre las anomalías específicas y los hallazgos clínicos, en particular, respuesta al tratamiento y evolución de la enfermedad.

Un aspecto característico de muchos de los subtipos histológicos de estas neoplasias, es la diferencia en la evolución

clínica de los pacientes, observándose que algunos casos presentan una larga sobrevida con muy poco requerimiento terapéutico en tanto que otros mueren rápidamente debido a progresión de la enfermedad, a pesar de los tratamientos específicos. Las causas de este comportamiento variable son aún desconocidas. Si bien se han logrado importantes avances en la identificación de factores pronóstico, sin duda el perfil genético del tumor presenta un valor determinante en la comprensión del comportamiento biológico de la patología.

El advenimiento de las técnicas moleculares y el desarrollo de las metodologías citomoleculares como FISH (fluorescence in situ hybridization), multicolor FISH y CGH (comparative genomic hybridization), combinadas con el rápido progreso de otras áreas como la biología celular y tumoral, han ampliado dramáticamente el conocimiento y comprensión de los mecanismos involucrados en la iniciación y progresión de estas neoplasias. Estos avances han permitido también revalorizar la utilidad clínica de los estudios genéticos en el diagnóstico y pronóstico de estas entidades, así como su importancia al momento de la elección del tratamiento.

Uno de los mecanismos de origen de las alteraciones cromosómicas es la presencia de inestabilidad genómica, que determina una propensión a roturas cromosómicas, asociada a un riesgo aumentado de desarrollo maligno. El acortamiento progresivo de los telómeros constituye uno de los procesos relacionados a dicha inestabilidad genómica, determinando una reducción de la capacidad replicativa de la célula y aumentando la probabilidad de producir errores capaces de generar cambios genómicos importantes para el proceso de desarrollo neoplásico, llevando a desbalances de material genético. Dicho acortamiento puede ser compensado a través de la síntesis *de novo* de secuencias teloméricas por parte de la telomerasa, una enzima ADN polimerasa ARN-dependiente, que interviene en el mantenimiento de la longitud telomérica (LT), permitiendo a la célula seguir proliferando. Las proteínas unidas a los telómeros, actúan como reguladoras de la LT, contribuyendo a la protección y mantenimiento del ADN telomérico. Las modificaciones en la expresión de las mismas o el daño directo al ADN telomérico, originan telómeros disfuncionales, incapaces de proteger los extremos de los cromosomas. Esta situación permite la aparición de fusiones teloméricas, asociadas a inestabilidad cromosómica, que favorecen el desarrollo tumoral.

Por otra parte, el proceso de iniciación y/o progresión neoplásica se encuentra también asociado a cambios epigenéticos que modifican el patrón de expresión de genes, sin que medie alteración de la secuencia primaria de nucleótidos. Entre ellos, la metilación del ADN es un mecanismo epigenético por el cual la transcripción de genes puede ser

inactivada mediante la unión covalente de un grupo metilo al residuo de citosina del dinucleótido CpG por acción de metiltransferasas. En células normales, las islas CpG se encuentran demetiladas para permitir la expresión de genes específicos, si los factores de transcripción están presentes y la estructura de la cromatina es accesible a ellos. Por el contrario, el patrón de metilación del ADN se encuentra profundamente alterado en las neoplasias humanas, constituyendo uno de los mecanismos de importancia en el silenciamiento de genes supresores de tumor.

En los últimos años, se han desarrollado los estudios de microarrays, tecnología que permite monitorear el genoma total, haciendo factible observar en forma simultánea las interacciones entre miles de genes. Su empleo ha hecho factible profundizar el conocimiento de los mecanismos patogénicos de las neoplasias linfoides, así como detectar perfiles de expresión génica distintivos para los diferentes subtipos histológicos. Esto ha llevado a distinguir genes discriminantes de las distintas entidades que pueden ser detectados por técnicas más sencillas como inmunohistoquímica o PCR en tiempo real, contribuyendo a desentrañar la heterogeneidad genética y clínica característica de estas entidades.

CONFERENCIA MECANISMOS CELULARES DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA DURANTE EL EMBARAZO

Dra. Ana Claudia Zenclussen

Full Professor of «Experimental Gynaecology» at the Medical University of the Otto-von-Guericke-University, Magdeburg. Guest Scientist at the Charité, Medical University of Berlin, Germany

La presencia de un tejido extraño en un organismo receptor podría producir inmediatamente una fuerte respuesta inmune dirigida a destruir a los aloantígenos presentes en el feto y placenta. Sin embargo, durante el embarazo, el feto semiallogeneico puede crecer en el útero materno, debido a múltiples mecanismos de tolerancia inmune, los que serán discutidos durante la charla.

CONFERENCIA NANOMEDICINAS: CRUCE DE BARRERAS, TRÁFICO INTRACELULAR Y POTENCIALIDAD ANTIPARASITARIA

Dra. Eder L. Romero

PhD. Programa de Nanomedicinas, Universidad Nacional de Quilmes.

La Nanomedicina puede definirse como el empleo de nano-objetos para ejecución de funciones terapéuticas y de diagnóstico en Medicina. En su función terapéutica, los nano-objetos más empleados son las nanopartículas (cualquier material con tres dimensiones en la nano-escala

de tamaño, que en términos biológicos está por debajo de los 250 nm). Tanto pequeñas moléculas hidrofóbicas como macromoléculas pueden ser incorporados a nano-objetos; así la resultante de nano-objeto + principio activo es una **nanomedicina**. Para las nanomedicinas tanto farmacocinética como biodistribución y tráfico intracelular dejan de depender de la estructura química del principio activo, para depender de la estructura, tamaño, forma, naturaleza superficial y química del nano-objeto. La incorporación en nano-objetos puede producir un sustancial aumento de hidrosolubilidad de principios activos sin necesidad de alterar su estructura química, con consiguiente incremento en absorción y biodisponibilidad tras su administración por vía oral. Asimismo, la incorporación en nano-objetos puede permitir que macromoléculas ingresen a través de la piel y mucosas sin necesidad de empleo de inyectables. Administrados parenteralmente en cambio, es posible controlar la estructura de los nano-objetos de modo que se distribuyan selectivamente en los sitios donde deben ejercer su acción, en tanto evadan el resto del cuerpo donde no son requeridos. Este *passive targeting* es fundamental para reducir los efectos tóxicos colaterales de citostáticos o antimicóticos. En esta exposición discutiremos brevemente nuestras experiencias pre-clínicas en diseño de estrategias terapéuticas que emplean de nano-objetos como agentes antichagásicos (liposomas pH-sensibles), anti-toxoplásmicos (dendrimeros) y anti-leishmaniasis cutánea (liposomas ultradeformables fotodinámicos).

CONFERENCIA LA IMPORTANCIA DE LA METODOLOGÍA PARA DETERMINAR ANDRÓGENOS EN PACIENTES CON HIRSUTISMO

Dr. Hugo E Scaglia

Asesor del Laboratorio Central. Jefe de la Sección de Determinaciones Hormonales del Hospital Italiano de La Plata. e-mail: info@iabe.com.ar

La Testosterona (T) es valorada en pacientes hirsutas como diagnóstico de hiperandrogenemia. R Azziz estudiando más de 1000 pacientes hirsutas (*J Clin Endocrinol Metab* 89: 453, 2004) define las posibles etiologías del hirsutismo y su frecuencia como: 1-Neoplasmas productores andrógenos: 0.23%, 2- Hiperplasia suprarrenal clásica: 0.69%, 3- Hiperplasia suprarrenal no clásica: 2.06%, 4- HAIRAN: 3.78%, 5- Hiperandrogenismo y/o Hirsutismo / Ovulatorias: 6.75%, 6- Hirsutismo Idiopático (HI): 4.47% y 7- SOP: 82.02 %. Para la definición de los 5 primeros grupos existen técnicas específicas; en esta presentación nos referiremos a la importancia de la determinación de T en el diagnóstico diferencial de los 2 últimos grupos. Desde el punto de vista clínico y terapéutico poder definir esta situación resulta de relevancia debido a que descartando las primeras causas mencionadas, las mujeres hirsutas en base a las características de función

ovárica y a los niveles de TT y otros precursores androgénicos, pueden ser: a) idiopáticos, con niveles normales de T y/o T libre (TL) y ciclos ovulatorios (Azziz, R. Y col: *Idiopathic Hirsutism. Endocrine Reviews* 21 (4): 347-362, 2000) o b) con aumento de los andrógenos y/o imagen ecográfica de ovarios poliquísticos (PO) o disfunción ovárica (DO). Estas últimas pacientes corresponden a síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) (Posición de la *Androgen Excess Society* Azziz R et al. *Fertil Steril* 91: 456-458, 2009). Esta patología es la de mayor frecuencia y la de mayores implicancias de patologías asociadas, muchas de las cuales son de gran relevancia. Uno de los posibles fenotipos del hirsutismo lo constituyen pacientes con disfunción ovárica sin hirsutismo ni hiperandrogenemia. En síntesis la determinación de T resulta un elemento fundamental en el diagnóstico diferencial de patologías asociadas al hirsutismo, en consecuencia debe ser valorada con técnicas apropiadas que garanticen los resultados. Taieb (*Clinical Chemistry* 49: 1381, 2003) compara los resultados de T en una misma alícuota de suero de 55 pacientes hirsutas por 10 diferentes métodos, manuales o automáticos empleando las técnicas utilizadas con mayor frecuencia en los laboratorios (RIE o inmuno ensayos por ELISA, CLIA, ECLIA, DELFIA). Los resultados obtenidos demostraron que 7 métodos sobrevaloran y 3 subvaloran los resultados de T comparados con cromatografía gaseosa y espectrometría de masa (GC-SM). Numerosas publicaciones corroboraron este estudio.

Dado las diferencias tan significativas entre los diversos métodos, habitualmente utilizados en los laboratorios de determinaciones hormonales, la Sociedad de Endocrinología de USA en un estudio de consenso entre más de 1000 laboratorios realizó una serie de recomendaciones acerca de la utilidad, limitaciones y errores en los métodos para la determinación de T. Las más significativas son: El método gold estándar para la evaluación de T es la Cromatografía Gaseosa en tándem con espectrometría de masas (GC - SM), Los métodos directos (RIE, ELISA ó CLIA) sobrevaloran o subestiman los niveles de T por lo cual no son recomendados. Ante la imposibilidad de disponer de GC - SM, se considera equivalente el RIE realizado en el extracto etéreo del suero y la purificación del mismo por *cromatografía* (Rosner, Auchus, Azziz, Sluss and Raff. *J Clin Endocrinol Metab* 32:405, 2007). El método gold estándar para la determinación de TL es la diálisis de equilibrio, de difícil aplicación rutinaria por lo cual se recomienda su determinación por cálculo utilizando la ecuación que surge de la ley de masas, El objetivo de este estudio es presentar el desarrollo de un método para la determinación de T por RIE en un extracto con éter del suero purificado por cromatografía en alúmina. Se determinó la concentración de T en el suero de hombres normales, mujeres normales y mujeres hirsutas. Se extrajeron por duplicado con 10 ml de éter, 0.5 y 1 ml de suero para hombres y mujeres, respectivamente, con el agregado de 5000 cpm de TH³ para calcular la recuperación. Se separó el éter y se evaporó a sequedad, resuspendiendo el extracto con 2 ml de hexano: éter (4:1). En una

pipeta Pasteur se agregó alúmina hasta una altura de 5 cm y se activó con el agregado en forma secuencial de etanol, metanol, cloruro de metileno: metanol (1:1) y cloruro de metileno. Se agregó a la columna el extracto del suero y se lavó la misma con 5 ml de etanol al 1.2% en hexano. Se agregaron 5 alícuotas de 1 ml de etanol al 3% en hexano. En 0.2 ml de cada fracción se determinó la radioactividad y se evaporó a sequedad el solvente del tubo donde se recuperó la T (los 0.8 ml corresponden a 0.4 y 0.8 ml de suero, respectivamente) El extracto se disolvió en 0.4 ml de buffer del RIE. En 0.05 ml se determinó la radioactividad y se calculó la recuperación. De los 0.3 ml restantes se realizó el RIE, empleando 0.1 y 0.2 ml, correspondiente a 50 y 100 microlitros de suero para hombres y 100 y 200 microlitros de suero para mujeres. La curva estándar se desarrolló entre 0.15 y 14.4 ng/ml, con un coeficiente de variación intraensayo menor al 5% entre 1.2 y 7.2 ng/ml y menor al 10% entre 0.30 y 9.6 ng/ml. La curva fue calibrada con 5 mezcla sueros cuyas concentraciones fueron de 6.4; 3.1; 1.5, 0.6 y 0.23 ng/ml, determinados por GC - SM (Quest Diag Inc USA) En este rango la sensibilidad analítica fué de 0.3 y 0.15 ng/ml para hombres y mujeres, respectivamente. La recuperación fué de 75.7 ±10.0%. Los valores (media ± DS) en los hombres normales fueron 6.1 ± 3.0 ng/ml y en las mujeres normales 0.45 ± 0.25 ng / ml, la concentración de TL en mujeres normales fue menor a 10 pg / ml. En las hirsutas idiopáticas y en pacientes con disfunción ovárica sin hirsutismo ni hiperandrogenemia, uno de los posibles fenotipos de esta patología, los niveles de T y TL fueron normales.

El inconveniente de los métodos directos para la valoración de T resulta en valores inferiores a 3.0 ng/ml. La utilización de un mayor volumen de suero y la purificación del extracto del suero al aumentar la sensibilidad analítica permite emplear en pacientes con bajos niveles de T, la zona de la curva con resultados confiables.

No se conoce con precisión por qué mujeres con T y TL normales presentan hirsutismo. Una de las posibilidades está centrada en el mecanismo de acción del receptor de andrógenos (RA). El receptor de andrógenos (RA) pertenece al tipo 1 de una superfamilia de receptores nucleares, que se caracterizan por homo - dimerizarse inducido por el ligando y actúa como un factor de transcripción. La porción N terminal tiene 2 polimorfismos silentes caracterizados por un número variable de repeticiones de nucleótidos dentro de cierto rango sin que se altere la acción biológica, uno de ellos es la repetición CAG que codifica para glutamina y la otra es la repetición GGN para glicina. Resulta difícil de interpretar porque pacientes hirsutas presentan en algunos casos niveles normales de andrógenos. La contracción CAG podría ser de utilidad para comprender el crecimiento del vello en pacientes con andrógenos normales. Otras posibilidades resultan de la activación del RA con niveles normales de andrógenos por factores de crecimiento locales, citoquinas como la IL6 o péptido relacionado a la paratohormona Por otro lado si las pacientes presentan DO y/o PO sin hirsutismo pero con hiperandrogenismo por contracción del

CAG, postulamos que deberían ser reclasificarlas como SOP, con la importancia que esto conlleva en la evaluación de patologías asociadas a este síndrome (J Scaglia; TX Carra; PR Viglianco; T Gómez y HE Scaglia XVI Congreso SAEM 2009).

CONFERENCIA CONSENSO ARGENTINO PARA EL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE TOXOPLASMOSIS.

Dr. Federico Kaufer

Centro de Toxoplasmosis. Hospital Alemán de Buenos Aires.

La prevalencia de anticuerpos específicos anti *Toxoplasma gondii* en la población de nuestro país presenta una amplia variación según la zona geográfica, de un mínimo registrado de 13% al sur del país a un máximo 72% en el norte. Las estimaciones estadísticas indican que por año, aproximadamente el 1% de la población se infecta, que representarían unas 400.000 personas. Pero infección no es sinónimo de enfermedad. La toxoplasmosis es una enfermedad poco frecuente y -por lo general- se manifiesta cuando existe una alteración en la respuesta inmune del huésped. En el adulto inmunocompetente la infección cursa en el 90% de los casos en forma asintomática y solo en un 10% se manifiesta la forma linfoganglionar y en algunos casos con compromiso ocular.

La linfadenitis cura espontáneamente. En el Hospital Alemán efectuamos un trabajo prospectivo sobre 135 pacientes con linfadenitis de fecha de inicio conocida y se observó que los ganglios más comprometidos fueron los de la zona posterior del cuello y los síntomas asociados más habituales fueron astenia, fiebre y cefaleas. Se estudió la cinética de las distintas inmunoglobulinas mediante las reacciones de Sabin Feldman (SF), Inmunofluorescencia Indirecta anti IgG (IFI G) e IgM (IFI M), ISAGA M, ISAGA A y ISAGA E. Los títulos de SF e IFI-G aumentaron rápidamente a partir de los 10 días postinfección hasta alcanzar una meseta con títulos $\geq 1/4000$, que disminuyeron a partir del año para estabilizarse en títulos medianos o bajos por años. Las ISAGAS presentaron una cinética distinta según la inmunoglobulina estudiada; las IgM tienden a negativizarse a partir del año, las IgA a partir de los 7 meses y las IgE a partir del 4 mes. Con el Test de Remington (IFI-M) no se obtuvieron títulos tan altos en la fase aguda y se negativizó a partir de los 5-6 meses.

En el paciente inmunocompetente, frente a la respuesta inmune, los parásitos se recluyen en quistes en distintos órganos y tejidos del cuerpo. Cualquier factor que altere la respuesta inmune, puede producir una nueva parasitemia de graves consecuencias. Este es el caso de los pacientes inmunocomprometidos, que comprende a pacientes infectados por HIV o con tratamientos inmunosupresores como en el caso de trasplantes o enfermedades oncológicas. El diagnóstico en estos casos está orientado a diferenciar al

paciente expuesto a una primoinfección y que requiere medidas de prevención primaria y control serológico periódico, de los que por estar ya infectados se deben controlar por la posibilidad de una reactivación.

En sudamérica se estima que el 80% de las uveítis posteriores son causadas por este parásito. Mucho tiempo se creyó que las retinocoroiditis eran solo consecuencia de una infección prenatal, pero se comprobó que también puede ser manifestación de una infección adquirida posnatal. Un estudio efectuado en el Hospital Alemán sobre 268 pacientes con retinocoroiditis reveló una asociación entre la serología y las distintas formas de presentación clínica: activa, reactivada e inactiva. La forma activa se presentó con mayor incidencia en los pacientes mayores de 30 años, mientras que la forma cicatrizal o reactivada predominaba en el grupo de menores de 25 años.

Si la infección toxopásmica ocurre en una mujer embarazada, el parásito puede invadir el feto ocasionándole daños cuya gravedad estarán en relación al periodo del embarazo. En embarazadas no tratadas la infección transmitida al feto es aproximadamente del 15%, 50% o del 65% de acuerdo al trimestre de embarazo en que ocurre la infección. Los daños graves van del aborto a malformaciones severas: macro/microcefalia, calcificaciones cerebrales, hidrocefalia, microftalmia, ceguera, pérdida auditiva, epilepsia, retraso mental o psicomotor o hepatoesplenomegalia. Las infecciones en el 3º trimestre, suelen ser asintomáticas al nacimiento pero en un 80% de los casos las secuelas aparecen tardíamente en la infancia o adolescencia.

La toxoplasmosis congénita es una enfermedad que puede prevenirse. La prevención se hace mediante la pesquisa de la infección reciente en la embarazada y la instauración del tratamiento que reduciría la frecuencia de transmisión y las secuelas en el niño.

Métodos diagnósticos. Estos consisten en identificar o aislar al parásito utilizando microscopía, inoculación en ratón o PCR. Los métodos directos permiten establecer un diagnóstico concluyente de infección aguda en caso de obtener resultado positivo en distintos materiales: placenta, líquido amniótico, sangre de cordón, LCR, BAL.

Su complejidad requiere un laboratorio especializado.

Los métodos indirectos ponen de manifiesto los anticuerpos específicos mediante distintos tipos de reacciones: Sabin y Feldman (SF), inmunofluorescencia indirecta anti IgG (IFI-G) e IgM (IFI-M), aglutinación directa (AD), ensayo inmunoenzimático anti IgG e IgM (EIA-G EIA-M), Inmunosorbent aglutinación assay (ISAGA) anti IgM, IgA e IgE y la prueba de avididad.

La prevención se debe realizar con la investigación de los anticuerpos específicos anti *Toxoplasma gondii*, tipo IgG e IgM. Ante la sospecha de infección aguda, seroconversión, IgG elevadas y/o IgM positivas, se debe complementar el estudio serológico para tratar de confirmar la primoinfección con otras técnicas como la reacción de Sabin Feldman o IFI G, las ISAGAS anti IgM, IgA e IgE, el Test de Remington y la prueba de avididad. La falta de precisión diagnóstica aca-

rea dos situaciones, o bien sobretratar o lo que es peor no tratar los casos que realmente lo requieren.

El diagnóstico de toxoplasmosis congénita en el recién nacido se realiza mediante el hallazgo de IgM, IgA o IgE específicas en la sangre del niño descartando contaminación con sangre materna, con el aislamiento del toxoplasma y/o la detección del DNA del parásito por PCR y el seguimiento serológico del recién nacido hasta el año de edad. El recién nacido infectado sintomático o asintomático debe ser tratado para prevenir secuelas tardías. Se estima que en ausencia de tratamiento el 85% de estos niños las desarrollarían.

Con este esquema estudiamos en nuestro hospital 8452 embarazadas, se detectaron 31 pacientes con serología compatible con infección aguda y 7 seroconversiones. La incidencia de toxoplasmosis adquirida durante el embarazo se estimó en un 4.5‰ (38/8452). Estas embarazadas recibieron tratamiento. Dos recién nacidos estaban infectados, ambos con ISAGA M y A positivas. Asumiendo que sin tratamiento el 50% de las infecciones maternas derivan en la infección fetal la incidencia de toxoplasmosis prevista era del 2.2 ‰ sin embargo con este esquema de prevención se redujo al 0.23 ‰.

Un trabajo multicéntrico del que participaron 9 hospitales de Capital Federal y conurbano (Medicina (Buenos Aires) 2008;68(6) 417-422) demostró que controlando 13632 embarazadas con el esquema del Consenso Argentino de Toxoplasmosis Congénita (Medicina (Buenos Aires) 2008; 68(1):75-87), en un 32% (121) de las pacientes con serología sospechosa (381) se confirmó el diagnóstico, en el 10% (37) la serología no fue concluyente, en un 12% (47) no se pudo evaluar por falta de datos y, en el 46% (176), se pudo determinar que la infección era anterior al embarazo y no requerían de ningún tratamiento.

Un programa activo y efectivo de control serológico permite un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado disminuyendo a un mínimo las consecuencias de una infección prenatal.

CONFERENCIA

EL PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD DE LA FUNDACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA: 22 AÑOS DE SERVICIO ININTERRUMPIDO.

Dr. Daniel Mazziotta

Director del Programa de Evaluación Externa de la Calidad. Federación Bioquímica Argentina.

e-mail: dmpeec@netverk.com.ar

El Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) fue fundado y organizado por la Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires (FABA) en Noviembre de 1987.

En 1993, cuando se crea la Fundación Bioquímica Argentina (FBA), es transferido a ésta donde funciona actualmente. Desde fines de la década del 70 y hasta la creación del PEEC por la FABA, otras organizaciones produjeron varios intentos de implementar la evaluación externa de la calidad que por distintos motivos no tuvieron la necesaria continuidad en este tipo de programas. A la vista de esta situación, el PEEC tuvo distintas estrategias que lograron implementar un programa con características deseables: continuidad, materiales de control adecuados, ciclo corto y un fuerte componente educativo. Luego de su afianzamiento, el PEEC inició otra etapa destinada a cubrir la mayor cantidad posible de áreas del Laboratorio Clínico. Actualmente tiene 31 subprogramas. En su última etapa, el PEEC comenzó a prestar servicios fundamentales para que los profesionales del Laboratorio Clínico pudiesen implementar las actividades de Garantía de la Calidad Analítica en sus laboratorios. Esta acción se ha realizado a través del servicio del Laboratorio de Referencia y Estandarización en Bioquímica Clínica (LARESBIC), creado en 1995. Este laboratorio complementa las acciones realizadas a través del PEEC mediante la provisión de controles instrumentales, sistemas de referencia (primarios y secundarios) para varios análisis y programas de certificación de calibración y provisión de materiales de referencia para validación de procedimientos analíticos. Este servicio permitirá implementar programas de estandarización analítica y aumentar así la armonización de los laboratorios por un lado y suplir la falta de calibradores y controles adecuados en nuestro medio.

Así, el PEEC acompaña la transformación de los Laboratorios Clínicos en su complejidad creciente y provee servicios imprescindibles para mejorar continuamente la calidad analítica que la red de laboratorios, tanto públicos como privados, ofrecen a la comunidad.

CONFERENCIA

SEGUNDOS MENSAJEROS LIPÍDICOS EN TERMINALES SINÁPTICOS DE CORTEZA CEREBRAL. EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO.

Dra. Norma M. Giusto

Profesora Emerita de la Universidad Nacional del Sur. Investigadora Principal de CONICET. Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca.

e-mail: ngiusto@criba.edu.ar

El envejecimiento es un proceso complejo que involucra cambios morfológicos y bioquímicos, con un desbalance acentuado tanto en la neurotransmisión como en la neuromodulación. La sinapsis constituye el sitio donde se produce la interacción célula-célula en sistema nervioso, y contiene la maquinaria molecular especializada para

mecanismos tales como: exocitosis, liberación de neurotransmisor y transducción de señales. En esta conferencia se presenta la modulación de las actividades enzimáticas fosfolipasa D (PLD), lípido fosfato fosfatasa (LPP), fosfolipasa C específica para fosfatidilcolina (PC-PLC) y diacilglicérido quinasa (DAGK) que generan mensajeros lipídicos, en sinaptosomas de ratas adultas (4 meses) y seniles (28 meses). Los resultados muestran que PLD1 aumenta su actividad en sinaptosomas seniles y que la presencia de GTP γ S y soluble estimula esta actividad tanto en sinaptosomas adultos como seniles. Estudios de transfección demostraron que la proteína G monomérica, Rho A, era la responsable del efecto observado. Los efectos sobre la actividad LPP por el envejecimiento y por la presencia de soluble y GTP γ S fueron similares a lo observado para PLD1, sin embargo en el caso de LPP estaba involucrada en el efecto una proteína G diferente a RhoA. A diferencia de lo que ocurre con PLD1 y LPP, DAGK se inhibe en el proceso de senilidad. PC-PLC se encuentra enriquecida en dominios resistentes a detergente (DRMs) no observándose modificaciones en su actividad por efecto del envejecimiento. Se evaluó el efecto del neuromodulador insulina involucrado en procesos de aprendizaje y memoria.

En ratas adultas la insulina promovería una mayor disponibilidad de PA con respecto a DAG. Mientras que en ratas seniles la insulina solo estimula LPP con lo que se promueve una mayor disponibilidad de DAG. Concluyendo se puede decir que: 1) la activación de PLD/LPP y la disminución de actividad basal de DAGK en la edad avanzada producen un desbalance DAG/PA, 2) la insulina modula estas vías y promueve una reversión del efecto, 3) esta regulación del balance PA/DAG podría explicar en parte el rol neuroprotector asignado a la insulina.

CONFERENCIA

RECEPTORES DE TRANSMISIÓN SINÁPTICA: DE LA ESTRUCTURA A LA PATOLOGÍA.

Profesora Dra. Cecilia Bouzat.

Laboratorio de Neurofisiología y Farmacología Molecular.
Instituto de Investigaciones Bioquímicas. CONICET.
Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional
del Sur. Bahía Blanca. Argentina.
e-mail: inbouzat@criba.edu.ar

Las células nerviosas poseen la capacidad de comunicarse entre ellas y con sus sistemas efectores muy rápidamente y con alta precisión. Esta propiedad de comunicación es fundamental para innumerables procesos, tales como movimiento muscular voluntario, aprendizaje, memoria, percepción. La zona especializada para la comunicación entre dos neuronas se denomina sinapsis. La mayoría de las neuro-

nas se comunican a través de sinapsis químicas en las que la neurona presináptica libera un neurotransmisor que se une a receptores específicos de la célula postsináptica. Dentro de una gran variedad de receptores se encuentran los denominados canales iónicos activados por neurotransmisores, quienes actúan como conversores de la señal química (el neurotransmisor) en una señal eléctrica. Así, la unión del neurotransmisor a su receptor específico produce la apertura de un canal iónico o poro que forma parte de la misma proteína. El pasaje de iones a través de este canal altera el potencial de membrana de la célula y desencadena la respuesta celular. Los canales iónicos activados por neurotransmisores median respuestas rápidas en sistema nervioso y poseen por lo tanto roles fisiológicos importantes. Cuando su funcionamiento es anormal, se originan enfermedades. Además, son sitios de acción de numerosas drogas y fármacos, tales como nicotina, benzodiazepinas, drogas paralizantes, anestésicos, etc. y muchos de ellos son potenciales blancos de drogas para enfermedades como Alzheimer y Parkinson. Conocer el mecanismo molecular de funcionamiento de dichos receptores y su modificación por fármacos permite orientar hacia terapias más selectivas y entender las alteraciones asociadas a un mal funcionamiento. Nuestro objetivo es dilucidar las bases moleculares de activación y modulación por agentes farmacológicos del receptor nicotínico de acetilcolina y de serotonina, ambos miembros de la gran familia de canales iónicos activados por neurotransmisores. Con tal fin, utilizamos técnicas de biología molecular para obtener receptores mutados y expresarlos en sistemas celulares heterólogos. Realizamos estudios farmacológicos y electrofisiológicos para determinar la interacción con drogas y la cinética de apertura y cierre del canal iónico. Combinando estas técnicas, identificamos regiones de la proteína que son claves para la activación del receptor y dilucidamos mecanismos de modulación de drogas que podrían estar involucradas en efectos terapéuticos o adversos. Existe una variedad de síndromes miasténicos congénitos que ocurren por mutaciones en el receptor nicotínico que interviene en la transmisión neuromuscular. Mediante la generación de receptores mutantes que imitan a los encontrados en pacientes y determinación de los cambios funcionales originados por dichas mutaciones, identificamos los mecanismos moleculares por los que se desencadena la enfermedad. El estudio de los mecanismos básicos de acción y modulación de receptores abre puertas para el desarrollo de fármacos más selectivos y para terapias más racionales para el tratamiento de enfermedades asociadas a funcionamiento anormal de estos receptores.

Bioquímica y Biología Celular

B.1- PARTICIPACIÓN DE LA CERAMIDA EN LA MADURACIÓN DE OVOCITOS DE ANFIBIO

BUSCHIAZZO J; BONINI IC; ALONSO TS

INIBIBB (UNS-CONICET). Bahía Blanca. Argentina. jbusch@criba.edu.ar

Los ovocitos ováricos están detenidos en la meiosis I y la progesterona induce el desarrollo (maduración). Este proceso es esencial para el éxito de la fertilización y la dilucidación de sus mecanismos biomoleculares podría ser relevante en el campo biomédico. El ovocito del sapo *Bufo arenarum* es un modelo experimental excelente porque a pesar de la distancia evolutiva, anfibios y mamíferos parecen tener un patrón similar de maduración. Resultados previos demostraron la existencia en ovocitos ováricos de microdominios de membrana tipo-caveolares que podrían participar en la señalización de la maduración. Como la acción inicial de la hormona en la membrana plasmática genera mensajeros lipídicos como ceramidas y diacilgliceroles, en esta oportunidad se analizó la habilidad de las ceramidas para inducir la ruptura de la vesícula germinal (GVBD), indicativa de la maduración. Los ovocitos se incubaron con C₂-ceramida o con dihidroceramida a diferentes concentraciones. La inducción hormonal se realizó incubando los ovocitos con la progesterona (5 µg/ml). La ceramida indujo la GVBD con una respuesta máxima a 150 µg/ml con un efecto similar al de la progesterona. Complementariamente, los ovocitos se incubaron distintos tiempos con una esfingomielinasa neutra. La esfingomielina (SM) se aisló cromatográficamente y se cuantificó por un método colorimétrico. A las 16 horas, la enzima produjo un porcentaje de GVBD similar al de la progesterona y el nivel de SM disminuyó significativamente con respecto al control. A diferencia de lo que ocurrió con la hormona, la incubación con ceramida afectó la distribución de marcadores de microdominios como caveolina y c-Src entre las fracciones de membrana sugiriendo que este lípido induce la maduración por un camino diferente al de la hormona esteroidea.

B.2- PARTICIPACIÓN DE LAS CASCADAS DE MAP QUINASAS EN LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS INTESTINALES INDUCIDA POR ATP

BUZZI N, BOLAND R, RUSSO DE BOLAND A.

Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. aboland@criba.edu.ar

En el presente trabajo se evalúa el rol del ATP en la activación de las quinasas activadas por mitógenos (MAPKs) ERK1/2, JNK1/2 y p38, su participación en la modulación de factores de transcripción y en la proliferación de las células intestinales Caco-2. Análisis por western blot demuestran que el ATP induce la fosforilación de las MAPKs de manera tiempo y dosis dependiente. Efecto también observado en presencia UTP, UDP y ATP_γS, pero no con ADP y ADP_iS, sugiriendo la participación de los receptores P2Y₂, P2Y₄ y P2Y₆ en el mecanismo de activación. Estudios de RT-PCR y la secuenciación de sus productos confirman la expresión de P2Y₂ y P2Y₄ en estas células. Mediciones espectrofluorimétricas muestran que el ATP provoca un aumento de calcio intracelular. Más aún, la fosforilación de las MAPKs depende tanto del influjo como de la liberación de calcio de depósitos intracelulares, de la activación de la familia c-Src tirosina quinasa, y parcialmente de las vías AMPc/PKA y PKC. Además el inhibidor específico del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), AG1478, disminuyó la fosforilación de las MAPKs, sugiriendo que su transactivación por el ATP, participa en la estimulación de estas quinasas. Por microscopía confocal se observó en células estimuladas, la translocación de las MAPKs al núcleo, donde fosforilan a los factores de transcripción ATF-1, ATF-2 y JunD e inducen la expresión de c-Fos y miembros de la familia Jun. Además las MAPKs participan en la inducción y fosforilación de la fosfatasa dual MKP-1, capaz de inactivar a ERK, JNK y p38. Finalmente se observó que el ATP, vía las MAPKs estimula la proliferación de las células Caco-2. Estos resultados proveen nuevas bases moleculares para el mejor entendimiento de las funciones del ATP como transductor de señales y activador de las MAPKs en estas células derivadas de adenocarcinoma de colon humano.

B.3- LA HORMONA PARATIROIDEA INDUCE APOPTOSIS EN CÉLULAS INTESTINALES VÍA INHIBICIÓN DE AKT.**CALVO N, GENTILI C, RUSSO DE BOLAND A.**

Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. aboland@criba.edu.ar

AKT desempeña un rol central en la supervivencia celular, su fosforilación es estrictamente regulada, mediante la acción combinada de quinasas y fosfatasa. Previamente demostramos que la hormona paratiroidea (PTH) promueve la apoptosis en la línea celular Caco-2 y que modula la fosforilación de AKT en respuesta a la apoptosis mediante la serina/treonina fosfatasa PP2A. El objetivo de este trabajo es profundizar el estudio de los mecanismos moleculares involucrados en los efectos de PTH en estas células intestinales. Ensayos de inmunoprecipitación mostraron que el tratamiento con PTH (10^{-8} M, 48 horas) induce la asociación de AKT con la subunidad catalítica de PP2A e incrementa su actividad fosfatasa. Utilizando microscopía confocal se observó que PTH promueve la translocación de PP2A del citosol a la mitocondria, resultados que fueron confirmados mediante aislamiento subcelular seguido de Western blot. La hormona disminuye la viabilidad de estas células en un 56%, y el ácido okadaico (1nM), un inhibidor de PP2A, revirtió este efecto, sugiriendo que esta enzima participa en la viabilidad de las células Caco-2 dependiente de la hormona. Análisis por Western blot revelan que PP2A también desempeña un rol en la activación por PTH de caspasa-3 y la degradación de su sustrato PARP. Usando inhibidores específicos se demostró que la vía del AMPc contribuye a la desfosforilación de AKT y a la activación de PP2A inducidas por PTH, mientras que PKC y p38 MAP quinasa no participan en estos eventos. En resumen, estos resultados sugieren que la fosfatasa PP2A y la vía del AMPc actúan concertadamente para inactivar a AKT y provocar apoptosis en las células intestinales Caco-2 expuestas a PTH.

B.4- ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCION DE PROGESTERONA EN SISTEMA VASCULAR: REGULACION DE PROCESOS CELULARES Y MOLECULARES**CUTINI P^{1,2}; MASSHEIMER V^{1,2}**¹Cátedra de Bioquímica Clínica II. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. ²CONICET. Bahía Blanca. Argentina. pcutini@uns.edu.ar

La regulación de la apoptosis, proliferación y migración de células endoteliales (CE) y musculares lisas vasculares (CMLV) es de fundamental importancia para la homeostasis vascular. Estos eventos bioquímicos-celulares son regulados por diferentes factores y hormonas, entre ellas, el esteroide sexual progesterona (Pg), e implican la participación de segundos mensajeros intracelulares. El objetivo del trabajo fue investigar el efecto de Pg sobre la regulación de estos procesos en cultivos de CE y CMLV de origen murino obtenidas por cultivo primario. Evaluamos el efecto de Pg sobre apoptosis de CMLV midiendo fragmentación de ADN. El tratamiento con Pg (10nM) indujo una mayor fragmentación respecto al control (55%, 88% ADN fragmentado/total; Control, Pg; $p < 0.05$). El pre-tratamiento con Pg no modifica la acción del H_2O_2 1mM (inductor de apoptosis), el cual produjo la máxima fragmentación. Llevamos a cabo ensayos de migración para estudiar si Pg afecta la motilidad de CE y CMLV. Luego de 48h de tratamiento hormonal observamos un estímulo significativo de la migración en ambos tipos celulares (115%;129% sobre/control, CE; CMLV, $p < 0.05$). Empleando la técnica de incorporación de [³H]-timidina, estudiamos el efecto de Pg sobre la proliferación de CE y CMLV. Vimos que 24h de tratamiento con Pg suprime el crecimiento de CE (63% inhibición; $p < 0.02$), mientras que ejerce un efecto proliferativo sobre CMLV (43% sobre/control; $p < 0.001$). Previamente demostramos que, en tejido vascular, Pg activa rápidamente las vías mensajeras de PKC y MAPK. Estudiamos si el efecto de Pg sobre proliferación está relacionado con estas vías. Utilizando los inhibidores selectivos Chelerythrine (PKC) y PD98059 (MAPK), observamos una supresión total de los efectos del esteroide para ambas vías mensajeras en sendos tipos celulares (Pg vs Pg+inhibidores; $p < 0.001$). Concluimos que Pg regula los procesos de apoptosis, migración y proliferación de CE y CMLV. En el estudio de proliferación, el mecanismo de acción hormonal involucra la participación de las vías mensajeras de PKC y MAPK.

B.5- EL TESTÍCULO EN DESARROLLO Y LA FORMACIÓN DE LÍPIDOS CON ÁCIDOS GRASOS DE LARGA Y MUY LARGA CADENA

LUQUEZ JM; ORESTI GM; OSSÉS N; REYES JG; AVELDAÑO MI; FURLAND NE.

INIBIBB. CONICET-UNS. Bahía Blanca. Argentina. nfurland@criba.edu.ar

El objetivo de este trabajo fue tratar de correlacionar los cambios que ocurren en los lípidos con ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de larga (C_{18} - C_{22}) y muy larga cadena (VLC) (C_{24} - C_{32}), característicos del testículo de rata, con los tipos de células germinales que van apareciendo durante el desarrollo postnatal. Se utilizaron técnicas cromatográficas, incluyendo capa fina para aislar los lípidos y fase gaseosa para el análisis de los ácidos grasos. Antes del inicio de la espermatogénesis, el ácido araquidónico (20:4n-6) fue el PUFA más abundante en los glicerofosfolípidos (GPL) de colina y de etanolamina testiculares en sus principales subclases (fosfatidil y plasménil). Con la aparición de células germinales en los túbulos seminíferos, el contenido de ácido docosapentaenoico (22:5n-6) se incrementó hasta convertirse en el ácido graso poliinsaturado mayoritario en ambos GPL, y por lo tanto en el PUFA predominante. Tanto los ésteres de colesterol (EC) como los triacilgliceroles testiculares de ratas prepúberes (P14) carecían de 22:5n-6 y de VLCPUFA, siendo el 20:4n-6 su PUFA más largo. A esta edad aún no estaban presentes los triglicéridos con una unión éter previamente caracterizada en adultos. Como los GPL, los lípidos neutros acumularon importantes proporciones de 22:5n-6 y de VLCPUFA con la culminación de la primera onda de espermatogénesis, es decir luego de la aparición de las primeras espermátidas y espermatozoides. Los principales VLCPUFA de los triglicéridos y GPL (24:4n-6 y 24:5n-6) se incrementaron paralelamente al 22:5n-6. En los EC testiculares, sólo una vez instaurada la espermatogénesis aparecieron abundantes VLCPUFA de 28 a 32 átomos de carbono. Los resultados son consistentes con la expresión de enzimas que específicamente modifican a los PUFA a medida que aparecen las células germinales. De hecho, el mRNA de dos elongasas importantes para formar C_{22} y C_{24} PUFA se halló en espermatozoides y espermátidas de animales adultos.

B.6- SISTEMA GABAÉRGICO NEURONAL EN LINFOCITOS HUMANOS

DIONISIO L; DE ROSA MJ; BOUZAT C; ESANDI MC.

INIBIBB-Bahía Blanca. Argentina. Idionisio@criba.edu.ar

Introducción: El ácido γ -amino butírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitorio más importante en Sistema Nervioso Central. Sin embargo su presencia ha sido identificada en células no neuronales, como las del sistema inmune. **Objetivos:** Estudiar el rol del sistema GABAérgico en la respuesta inmune. Determinar los componentes de este sistema y su funcionalidad en linfocitos humanos. **Métodos:** Aislamiento de linfocitos de sangre periférica, detección de ARNm por RT-PCR y PCR en tiempo real. Recaptación de [3 H]GABA, ensayo de proliferación por incorporación de [3 H]Timidina, inmunocitoquímica y registros de corrientes macroscópicas por Patch Clamp. **Resultados:** En linfocitos activados con el mitógeno fitohemaglutinina (PHA) y sin activar, determinamos la expresión del ARNm de componentes del sistema GABAérgico como: i) GAD67, isoforma de la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD), sintetizadora de GABA; ii) VIAAT, proteína vesicular encargada del almacenamiento de GABA; iii) GAT1 y GAT2, transportadores de GABA; iv) GABA-Transaminasa, enzima catabolizadora de GABA; v) $\alpha 1$, $\alpha 3$ y $\alpha 6$, subunidades del receptor $GABA_A$ y vi) $\beta 2$, subunidad del receptor $GABA_C$. Nuestros resultados demostraron que los transportadores de GABA son funcionales, observándose un incremento de 5 veces en la recaptación de [3 H]GABA en las células activadas respecto a las no activadas. También determinamos que los receptores ionotrópicos de GABA son funcionales ya que agonistas como GABA y muscimol, fueron capaces de generar corrientes macroscópicas en estas células. Finalmente, determinamos que GABA y muscimol inhiben la respuesta proliferativa de los linfocitos inducida por PHA. **Conclusiones:** Nuestros resultados demuestran que los linfocitos poseen los elementos necesarios para constituir un sistema GABAérgico propio. La modulación farmacológica de este sistema puede ser de utilidad en la instauración de nuevas estrategias para la regulación de la respuesta inmune. Por otro lado, nuestro estudio abre la posibilidad de utilizar los linfocitos como modelo de fácil accesibilidad para investigar alteraciones del sistema GABAérgico en enfermedades neurológicas.

B.7- EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO EN LA METABOLIZACIÓN DE ENDOCANABINOIDES EN SINAPTOSOMAS DE CORTEZA CEREBRAL DE RATA.

GAVEGLIO V; PASCUAL A; GIUSTO N; PASQUARÉ S.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB). Bahía Blanca, Argentina. vgaveglio@criba.edu.ar

Introducción: El «sistema canabinoide» representa un nuevo mecanismo de comunicación celular. Está formado por tres tipos de elementos: 1) ligandos endógenos, 2) receptores de membranas, y 3) mecanismos para la inactivación de la señal. Los ligandos, 2-araquidonoilglicerol (2-AG) y araquidonoiletanolamina (AEA), son degradados enzimáticamente por la monoacilglicérido lipasa (MAGL) y por la ácido graso amido hidrolasa (FAAH), respectivamente. **Objetivos:** En este trabajo presentamos la caracterización de la actividad de MAGL y FAAH en sistema nervioso central (SNC) de ratas adultas y seniles. **Materiales y Métodos:** Se emplearon sinaptosomas purificados provenientes de corteza cerebral (CC) de ratas adultas (4 meses) y seniles (28 meses). Las actividades de MAGL y FAAH se ensayaron empleando como sustratos 2-araquidonil[³H]glicerol y araquidonoil[³H]etanolamina, respectivamente. Los productos [³H]glicerol y [³H]etanolamina fueron cuantificados a partir de la fase acuosa y los sustratos sin reaccionar fueron separados por cromatografía en capa fina y a partir de allí cuantificados. **Resultados:** MAGL presenta una actividad 3 veces mayor que la de FAAH en sinaptosomas adultos. El proceso de envejecimiento estimuló un 100% la actividad de MAGL y disminuyó un 54% la de FAAH. El URB-602, inhibidor específico de MAGL, inhibió la actividad enzimática (24%) tanto en adultos como en seniles. URB-597, inhibidor específico de FAAH, inhibió la actividad de esta enzima (75%) en sinaptosomas adultos y un 7% en seniles. **Conclusiones:** Los resultados muestran una regulación diferente en la metabolización de 2-AG y AEA en el proceso de envejecimiento.

B.8- PROLIFERACIÓN Y LIGADO ESPECÍFICO DE ALENDRONATO EN CELULAS ÓSEAS A TRAVÉS DE PROTEÍNAS TIROSINA FOSFATASAS (PTPs).

LEZCANO V; BOLAND R; MORELLI S.

Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. vlezcano@criba.edu.ar

Los bisfosfonatos (BPs) son análogos sintéticos de los pirofosfatos endógenos, ampliamente utilizados para la prevención y el tratamiento de patologías óseas como la osteoporosis postmenopáusica, enfermedad de Paget. Se ha reportado que los BPs inhiben la apoptosis de osteocitos y osteoblastos a través de la apertura de hemicanales de conexina (Cx) 43 y la activación de quinasas reguladas por señales extracelulares ERKs. Sin embargo aún no se ha identificado una entidad molecular o receptor a través del cual los BPs desencadenan la activación de estas vías clásicas de transducción de señales. Por medio de ensayos de ligado competitivo usando ³H-alendronato en células enteras demostramos la presencia de un sitio de ligado específico y saturable de alta afinidad en células de osteosarcoma de rata (ROS 17/2.8) y osteoblastos derivados de calvaria que expresan Cx 43, así como en células HeLa que no expresan Cx43; además los sustratos de proteínas fosfatasa desplazaron el ligado de ³H-alendronato. Por otra parte, tanto el BP como el inhibidor de PTP ortovanadato (Na₃VO₄) incrementaron la proliferación de células que expresan o no Cx43. Similarmente al Na₃VO₄ el BP inhibe la actividad de PTP en células ROS 17/2.8. Estos resultados sugieren que los BPs se ligan e inhiben a las PTPs. Por análisis de Western blot y RT-PCR se evidenció que las PTP mu, PTP alfa y PTP1B se expresan en células ROS 17/2.8, MLO-Y4 y HeLa. Además por ensayos de co-inmunoprecipitación demostramos en células ROS 17/2.8 y MLO-Y4 asociación de Cx43 con PTP mu. Estos resultados apoyan la hipótesis que los BPs se unen a PTPs, las cuales se asocian con Cx43, activando a su vez vías de señalización intracelulares en osteoblastos y osteocitos.

**B.9- ACCIONES ANTIAPOPTÓTICAS DE ESTRADIOL Y TESTOSTERONA EN MÚSCULO ESQUELÉTICO
PRONSATO L; RONDA A; MILANESI L; VASCONSUELO A; BOLAND R.**

Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. lpronsato@criba.edu.ar;
rboland@criba.edu.ar

La pérdida de masa y fuerza del músculo esquelético, patología conocida como sarcopenia, es una condición frecuente durante el envejecimiento. Conduce a incapacidad motora pudiendo resultar en internación y mortalidad. Puesto que los niveles de estrógenos y/o testosterona disminuyen con la edad, la sarcopenia se ha asociado al déficit de hormonas sexuales. Aunque los mecanismos moleculares involucrados en esta patología no están totalmente dilucidados, existen evidencias indicando que la apoptosis es en parte responsable de la pérdida de miocitos en la adultez. Coincidentemente, se ha observado mayor grado de apoptosis en ratas adultas con atrofia muscular aguda. En trabajos previos demostramos que el 17 β -estradiol (E2) inhibe la apoptosis en la línea celular de músculo esquelético murino C2C12 a través de los receptores de estrógenos (ERs) con localización no clásica. Asimismo evidenciamos la participación de PI3K/Akt, MAPKs y HSP27 en dicho proceso. En este estudio, usando *siRNAs* específicos para silenciar las isoformas del ER, comprobamos que el E2 activa ERK2 involucrando a ER α . En cambio, la activación de p38 MAPK es independiente de ERs. A su vez, confirmamos que el E2 puede inhibir la apoptosis a través de las MAPKs en cultivos primarios de músculo esquelético de ratón. Estas investigaciones demuestran también que la testosterona bloquea la apoptosis de forma similar al E2. Las alteraciones morfológicas típicas de la apoptosis, tales como la fragmentación nuclear, desorganización del citoesqueleto, reorganización/difusión mitocondrial y liberación de citocromo c, inducidos por H₂O₂ fueron suprimidas al preincubar las células C2C12 con testosterona. Se requieren estudios adicionales para establecer un paralelismo entre los mecanismos de acción de ambas hormonas, que podrían estar implicados en patologías del músculo asociadas a apoptosis. Los datos presentados aquí profundizan el conocimiento de las bases moleculares de la sarcopenia relacionada con estados de déficit de hormonas sexuales.

**B.10- PARTICIPACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN PI3K/AKT EN LA MODULACIÓN DE LA PROLIFERACIÓN
POR ATP EN CÉLULAS OSTEABLÁSTICAS Y TUMORALES MAMARIAS
SCODELARO BILBAO P; KATZ S; BOLAND R; SANTILLÁN G.**

Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur-CONICET. Bahía Blanca. Argentina. gsantillan@criba.edu.ar

La vía de señalización de la fosfatidil inositol 3-quinasa (PI3K)/Akt ha sido implicada en la regulación de la proliferación celular y oncogénesis. Previamente, demostramos que la estimulación de receptores P2Y_{2/4} por ATP induce la fosforilación de Akt en serina 473 en forma dependiente de PI3K en células osteoblásticas ROS 17/2.8 y tumorales mamarias MCF-7. En estas últimas, la activación de Akt por ATP fue, además, dependiente de Src y PKC e independiente del flujo de Ca²⁺. En este trabajo se estudió la modulación de la vía PI3K/Akt por ATP en células ROS 17/2.8 y su contribución a la proliferación celular en ambas líneas celulares. Mediante análisis de Western blot se observó que el uso de PP1, un inhibidor de Src, disminuyó la activación de Akt inducida por ATP en células ROS 17/2.8. La incubación de las células en un medio libre de Ca²⁺ (+EGTA 0,5 mM) inhibió el efecto del ATP sobre la activación de Akt, mientras que nifedipina y verapamil, inhibidores de canales VDCC ó Ro318220, un inhibidor de PKC, no lograron disminuir dicho efecto. El empleo de Ly294002 y wortmanina, inhibidores de PI3K, sugiere que la fosforilación de las MAPKs ERK1/2, p38 y p46 JNK por ATP es independiente de PI3K. Ensayos de viabilidad celular (MTS) demostraron que ATP y UTP incrementaron la viabilidad celular luego de 24hs en ambas líneas celulares, mientras que Ly294002 y wortmanina, disminuyeron dicho efecto. Estos resultados sugieren que, al igual en células MCF-7, la activación de Akt es dependiente de PI3K como de Src. En células ROS 17/2.8, se evidenció que el flujo de Ca²⁺ a través de canales distintos a VDCC modula la activación de Akt. PKC no participaría en la activación de Akt por ATP. En ambos tipos celulares, la vía PI3K/Akt participaría en los efectos mitogénicos inducidos por ATP.

Bioquímica Vegetal

BV.1- EFECTO GASTROPROTECTOR Y ANTIESPASMÓDICO DE *SOLIDAGO CHILENSIS*, ESPECIE NATIVA DE INTERÉS MEDICINAL

BUCCIARELLI A; MILCZAKOWSKY MC; GUARDIOLA FM; SKLIAR MI.

Laboratorio de Farmacognosia. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. mskliar@uns.edu.ar

La úlcera péptica es una de las patologías más importantes del sistema digestivo que por sus características etiopatológicas es de difícil prevención. Los tratamientos actuales producen efectos secundarios y acciones no deseadas, por lo que se ha incrementado la búsqueda y evaluación de agentes provenientes de plantas, entre ellas *Solidago chilensis* que, según su uso tradicional, demostró poseer beneficiosos efectos en el tratamiento de afecciones gastrointestinales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad gastroprotectora y la motilidad gastrointestinal del extracto acuoso obtenido a partir de las inflorescencias de la planta por vía oral en ratones. La actividad gastroprotectora se determinó en un modelo representativo de la enfermedad ulcerosa en el humano por inducción de úlceras con etanol, empleando omeprazol y sucralfato como drogas de referencia. Se empleó el ensayo de carbón activado para la determinación de la motilidad gastrointestinal, administrando neostigmina y atropina como drogas de referencia. El extracto exhibió significativa reducción en el número de lesiones gástricas y en la motilidad gastrointestinal a dosis de 500, 1000 y 2000 mg/kg ($P < 0,05$). No se observaron efectos tóxicos a las dosis administradas. Ensayos preliminares revelaron la presencia de flavonoides en el extracto de la planta. La presencia del extracto en los estómagos sugiere que los flavonoides podrían actuar como inhibidores de la motilidad, la que está estrechamente relacionada con la capacidad de que un mayor tiempo de permanencia en el estómago prolongaría su efecto gastroprotector. Estos resultados apoyan la realización de otros estudios farmacológicos de *Solidago chilensis* orientados a su posible desarrollo como medicamento fitoterápico con actividad antiulcerosa.

Educación

ED.1- VEINTIÚN AÑOS DE RESIDENCIA BIOQUÍMICA EN EL HOSPITAL PENNA DE BAHÍA BLANCA GONZÁLEZ ML; ALVAREZ M; CARRA T, CASATTI M; GIACOMOLLI S; JUNQUERA L; MARTINEZ C; SCHENKEL V; VIGLIANCO P.

Hospital Interzonal General «Dr. José Penna» de Bahía Blanca. Bahía Blanca. Argentina. tentonigonzalez@gmail.com

El sistema de Residencias en Salud es una estructura educativa supervisada y rentada de post grado, que promueve la integración y jerarquización de los conocimientos adquiridos en la Universidad. El Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires exige como requisitos para su inscripción anual menos de 5 años de egresado, edad hasta 45 años y matriculación. El orden de mérito surge de la media entre la nota del examen escrito y el promedio de la carrera. No hay entrevistas. El Hospital Interzonal General «Dr. José Penna» de Bahía Blanca es el único en toda la Región Sanitaria I en contar con Residencia en Bioquímica. Se inició en 1988 y comprende 3 años de formación con dedicación exclusiva. Cuenta con 1 Jefe de Residentes y 1 Instructor. Las rotaciones incluyen durante el primer año: Química Clínica, Hemogramas, Medio Interno, Líquidos Biológicos, Metabolopatías, Coproparasitología y Hormonas; en el segundo: Inmunología y Bacteriología; en el último Medicina Nuclear, Hematología y Hemostasia. Deben participar activamente en seminarios, ateneos, trabajos de investigación y Jornadas. El objetivo es la adquisición en el ámbito hospitalario de herramientas adecuadas para ejercer competentemente la profesión. El total de becarios a la fecha es 48, 43 mujeres y 5 varones, todos egresados de la UNS. Con respecto a la inserción laboral de los 40 ex residentes, 22,5% (9/40) forman parte de nuestro plantel, 47,5% (19/40) trabajan en laboratorios privados de Bahía Blanca, 7,5% (3/40) son docentes en forma exclusiva y un 22,5% (9/40) ejercen su profesión fuera de nuestra ciudad. Consideramos altamente beneficiosa la implementación y mantenimiento a lo largo de estos 21 años de la Residencia en Bioquímica en nuestro Hospital, gracias al compromiso de todo su plantel profesional, técnico y administrativo, logrando un egresado con la capacidad y perfil interdisciplinario que necesita nuestra región.

ED.2- IMPLEMENTACION DEL PRACTICANATO PROFESIONAL EN EL NUEVO PLAN DE ESTUDIOS DE BIOQUIMICA. TENTONI J; POLINI NN.

Cátedra del Practicanto Profesional de Bioquímica. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. nnpolini@uns.edu.ar

El Practicanto Profesional de Bioquímica (PPB) está inserto en el primer cuatrimestre del sexto año del plan de estudios 2007. Se dicta a lo largo de todo el año, independientemente del calendario académico pautado por la Universidad. Tiene una carga horaria mínima de seiscientos horas, distribuidas en un período de seis meses, dictándose dos veces al año para dos grupos diferentes de estudiantes. El objetivo de esta asignatura es capacitar al estudiante avanzado de la carrera de Bioquímica con el ejercicio profesional tanto en los ámbitos universitario como hospitalario, bajo un sistema educativo programado y supervisado. En el ámbito de la UNS se dicta en el primer mes de cada semestre un Seminario Introductorio a la problemática del ejercicio de la profesión y se completa el programa analítico con la rotación hospitalaria por secciones básicas de cada Servicio y la exposición de 2 casos clínicos en forma de ateneos intralaboratorio en el que participan tanto los Instructores como los Bioquímicos de planta. En los primeros 12 meses cursaron la asignatura 45 estudiantes distribuidos en 4 Hospitales locales: Militar 11%, Municipal 22%, Naval 29% y Penna 38%. Treinta y siete fueron mujeres (82%) y ocho varones (18%), con edades comprendidas entre 23 y 36 años (mediana 27). En condición de estudiantes especiales lo realizaron 25 (56%) y en forma extracurricular 20 (44%), abandonando el cursado sólo 3 (7%). Promediando los 2 semestres rindieron examen final el 60% de los mismos. En definitiva y a modo de síntesis, consideramos positiva la implementación del PPB pues apunta a formar de manera integral al estudiante avanzado de Bioquímica de la UNS como un profesional de la salud capacitado en los aspectos profesionales, procedimentales, éticos, sociales y de bioseguridad.

Endocrinología

E.1- RELEVANCIA CLÍNICA DE LA DETERMINACIÓN DE ISÓMEROS DE LEUCINA EN RECIÉN NACIDOS BOLTSSIS ML; SULDRUP N.

IACA Laboratorios. Departamento de Metabolopatías. Bahía Blanca. Argentina. metabolopatias@iaca.com.ar

Introducción: Hasta la fecha se han descrito 5 defectos mitocondriales en la vía catabólica de la Leucina. La deficiencia del complejo β -cetoácido deshidrogenasa de aminoácidos ramificados es la que produce la Enfermedad de la Orina con Olor a Jarabe de Arce (MSUD, Maple Syrup Urine Disease). La ley provincial N° 13.905 obliga a realizar la determinación de Leucina en todos los recién nacidos con el fin de detectar la MSUD. La identificación rápida de los pacientes con esta patología, es necesaria para intervenir retirando los aminoácidos ramificados de la dieta y así evitar graves secuelas.

Objetivos: Evaluar la determinación de isómeros de leucina por Cromatografía Gaseosa con Detector Selectivo de Masas (CG-MS). **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se utilizaron muestras de sangre seca en papel de filtro y suero de pacientes: 20 Controles normales, 2 pacientes Fenilcetonúricos, 1 con Deficiencia de 3-Hidroxi-3-Metil-Glutaril-CoA liasa (3-HMG) y 1 con MSUD. La metodología empleada fue Cromatografía Gaseosa con Detector Selectivo de Masas (CG-MS). **Resultados:** Si bien el mecanismo de síntesis de alioisoleucina no está totalmente dilucidado, se comprobó que sólo está presente en concentraciones plasmáticas elevadas en los casos de MSUD. En enfermedades relacionadas con el metabolismo de los aminoácidos ramificados como la 3-HMG y otras aminoacidemias como la Fenilcetonuria, la concentración de Alloisoleucina no es detectable o se encuentra dentro de rangos fisiológicos. **Conclusiones:** Debido a la obligatoriedad de detectar los pacientes con MSUD y a las graves secuelas neurometabólicas que puede ocasionar esta enfermedad, es de suma importancia contar con una determinación que permita confirmar el diagnóstico de la misma. Los niveles incrementados de Alloisoleucina son patognomónicos de MSUD en cualquiera de sus formas, mientras que en otras patologías que pueden presentar hiperleucinosia, la concentración de Alloisoleucina plasmática se encuentra dentro de rangos fisiológicos.

E.2- EFECTO DE TESTOSTERONA SOBRE LA PRODUCCIÓN DE VASOACTIVOS EN TEJIDO VASCULAR CAMPELO A^{1 2}; CUTINI P^{1 2}; MASSHEIMER V^{1 2}

¹Catedra De Bioquímica Clínica II. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional Del Sur. Bahía Blanca. Argentina. ²CONICET. massheim@uns.edu.ar

El óxido nítrico (NO) constituye uno de los principales mediadores bioquímicos del sistema vascular. A través de sus acciones como mensajero intracelular exhibe propiedades vasodilatadoras, antitrombóticas y antiaterogénicas. El tejido vascular es considerado órgano blanco de los andrógenos ya que la presencia de su receptor ha sido demostrada. En el presente trabajo investigamos el efecto de testosterona (T) sobre la producción de NO en tejido vascular. Los modelos experimentales empleados fueron: anillos de aorta torácica (AAT) o cultivos primarios de células endoteliales (CE) aislados de ratas Wistar. La producción de NO se determinó por el método de Griess. Como control positivo del ensayo se empleó acetilcolina, agonista natural de la óxido nítrico sintasa (NOS), observándose un estímulo significativo sobre la síntesis de NO luego de 5 minutos de tratamiento con 10 μ M acetilcolina (212% s/control, $p < 0.001$). En estudios dosis respuesta demostramos que T (10^{-7} a 10^{-11} M) estimula la producción de NO tanto en AAT (15-125% s/control, $p < 0.01$) como en CE (14-85% s/control, $p < 0.001$). Los efectos se observaron entre 3-20 min. de exposición al esteroide. Los estímulos máximos se detectaron a 0.1 nM T en AAT y a 1 nM T en CE (0.224 \pm 0.03 vs 0.504 \pm 0.04 nmol; 4.25 \pm 0.55 vs 7.84 \pm 1.13 nmol NO/mg prot, AAT; CE, control vs T, $p < 0.001$). Siendo la NOS susceptible de regulación por fosforilación PKC y MAPK dependiente, se seleccionaron los compuestos chelerythrine y PD98059 como inhibidores PKC y MAPK respectivamente, y se evaluó la participación de esta vías en la acción hormonal. Chelerythrine 1 μ M, en ambos sistemas, suprimió totalmente el incremento en NO inducido por 0.1 nM T (126 vs 3% s/control, T vs T+chelerythrine, $p < 0.05$). PD98059 no modificó la acción hormonal. Los resultados evidencian acciones directas de la testosterona a nivel del endotelio vascular, estimulando la síntesis de NO a través de un mecanismo rápido que involucra la participación del sistema PKC.

E.3- ROL POTENCIAL DE *Opuntia* aff. *salagria* EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES EN RATAS

GILI V; SÁNCHEZ S; ALONSO T.

INIBIBB (UNS-CONICET). Bahía Blanca. Argentina. vgili@criba.edu.ar

La diabetes es una de las patologías con mayor impacto en la sociedad mundial y afecta actualmente a 135 millones de personas. Es un desorden metabólico caracterizado por un aumento en los niveles de glucosa y de lípidos séricos y está relacionada con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Según la OMS el 80% de la población utiliza plantas medicinales para el abordaje de sus problemas primarios de salud. La *Opuntia* (familia *Cactaceae*) aparece como una de las fuentes vegetales más prometedoras de supresores activos de la diabetes pero aún no se han dilucidado completamente los mecanismos responsables de sus acciones terapéuticas. El objetivo de este trabajo es analizar los efectos de los cladodios (tallos) y de las semillas de *Opuntia* aff. *salagria* sobre los parámetros hematológicos y clínicos de ratas con diabetes inducida con estreptozotocina. Las harinas de los cladodios y de las semillas se administraron diariamente como suplemento de la dieta estándar y luego de 30 días se extrajeron las muestras de sangre. Los tratamientos con *Opuntia* no produjeron mortalidad ni cambios en el comportamiento de los animales. El estudio hematológico demostró que la administración del cactus llevó los niveles de eritrocitos y de monocitos de las ratas diabéticas a los observados en los animales sanos. También se restablecieron los valores de creatinina sérica y de las enzimas FAL, GOT, GPT y GGT. Además, los niveles séricos de triglicéridos, colesterol total, LDL-c, y VLDL disminuyeron significativamente como consecuencia de los tratamientos con la planta. Por lo tanto, *Opuntia* aff. *salagria* podría ser utilizada en el tratamiento de la diabetes, en particular de la dislipemia que acompaña a la enfermedad.

E.4- PREVALENCIA DE TERATOZOOSPERMIA EN HOMBRES JOVENES

GUINZBURG M; ANTISTA S; BACCINI L; DI CHIARA M; FERNANDEZ P; MONTERO S.

IACA Laboratorios Bahía Blanca. Argentina endocrinologia@iaca.com.ar

Introducción: La evaluación de teratozoospermia (alteración de la morfología espermática), requiere gran experiencia y suele ser el parámetro más constante e invariable dentro del Estudio Integral de Variables Espermáticas (EIVE), constituyendo un factor de mal pronóstico en fertilidad. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de teratozoospermia, en hombres jóvenes, según criterio estricto de Kruger. **Materiales y Métodos:** estudio clínico, retrospectivo, descriptivo, corte transversal, en 499 hombres de 20 a 40 años, entre enero del 2007 y junio del 2009. Muestras recolectadas, según condiciones preanalíticas establecidas por OMS. Se utilizó tinción de Papanicolau modificada. Los pacientes fueron clasificados según el porcentaje de formas normales: Grupo I: $\geq 14\%$ Normales; Grupos II: 5-13% Moderada teratozoospermia; GRUPO III: 1-4% Marcada teratozoospermia. **Resultados:** se calcularon medias y proporciones (Microsoft Excel, variables cualitativas y cuantitativas). Del total de las muestras se obtuvieron 5% de normales, 68% moderada y 27% marcada teratozoospermia. Grupo I (n=25): 43% fumadores; 60% realizaba actividad física; Grupo II (n=339): 33% fumadores; 56% realizaba actividad física; Grupo III (n=135): 34% fumadores; 64% realizaba actividad física. De 17 pacientes con varicocele, 6% presentó morfología normal, 70% moderada y 24% marcada teratozoospermia. **Conclusiones:** la prevalencia de teratozoospermia encontrada en nuestra población es muy alta, aunque la mayoría no eran fumadores y realizaban actividad física. Si bien la morfología estricta es un factor predictivo de embarazo en FIV, quizá habría que replantear los criterios de normalidad, como pretende hacer la OMS en su nueva versión del Manual 2009. Nos preguntamos en que medida podría afectar la contaminación ambiental de nuestra zona, dado que sabemos que los disruptores endócrinos alteran el eje gonadal y, por ende, la espermatogénesis.

E.5- EVALUACIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL DNA ESPERMÁTICO MEDIANTE EL TEST DE TUNEL (Terminal DesoxiNucleotidil Uridin Trifosfato, dUPT, Deoxynucleotidil Tranferase Nick-End Labelling Assay)

LÓPEZ ROMERO A; BACCINI L; MONTERO S; GUINZBURG M; ANTISTA S; FERNANDEZ P; DI CHIARA M.

IACA Laboratorios. AMERIS, Centro de Ginecología, Urología y Reproducción. Bahía Blanca.

endocrinologia@iaca.com.ar

Introducción: El análisis del semen, es la prueba clínica más importante para evaluar fertilidad masculina, aunque no revela defectos en la integridad del genoma, de vital importancia en el inicio y mantenimiento del embarazo. **Objetivo:** evaluar la calidad del DNA espermático y su utilidad como marcador pronóstico del factor masculino en tratamientos de fertilidad mediante el Test de TUNEL. **Materiales y métodos:** se realizó el Estudio Integral de las Variables Espermáticas (EIVE) y el Test de TUNEL en 14 muestras. Este test permite visualizar la incorporación de nucleótidos marcados con un fluorocromo en los extremos de la roturas del DNA. La muestra se adquiere en un citómetro de flujo. El valor de corte sugerido en la bibliografía es 30%. **Resultados:** todas las muestras presentaron alteraciones de uno o varios parámetros del EIVE. En 12 pacientes se obtuvieron resultados negativos (< 30%), 2 de estos lograron embarazo mediante reproducción asistida, uno solo llegó a término. De los 10 restantes, 5 tuvieron embarazos espontáneos detenidos entre las semanas 5 y 14; y de los otros cinco, carecemos de datos. De los 2 pacientes restantes, se obtuvieron un resultado positivo (>30%) desconociendo su evolución, y otro borderline (30%) logrando un embarazo espontáneo. **Conclusiones:** este trabajo que está en etapa preliminar pretende categorizar el potencial fertilizante de estos pacientes. Un valor agregado radica en la utilización de la citometría de flujo, como herramienta diagnóstica adicional en el laboratorio de Andrología. La literatura evidencia que el daño al DNA influye en la fertilidad.

E.6- EL CRECIMIENTO DEL TEJIDO VASCULAR ES REGULADO POR COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ESTRÓGENICA SANDOVAL MJ^{1,2}; CUTINI PH^{1,3}; RAUSCHEMBERGER MB^{1,3}; MASSHEIMER VL^{1,3}

¹Bioquímica Clínica II. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. ²Química General, UTN-FRBB.

³CONICET. Bahía Blanca. Argentina.

Introducción: el Raloxifeno (Rx) y la Genisteína (Gen) son moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM) propuestos como alternativa terapéutica en la postmenopausia. Gen usado para aminorar síntomas del hipopostrogenismo y el Rx para evitar pérdida de masa ósea. **Objetivo:** evaluar los efectos de ambos SERM sobre la proliferación y migración de células endoteliales (CE) y células musculares lisas vasculares (CMLV) aisladas de aorta de rata. **Resultados:** utilizando incorporación de ³H-timidina observamos que el tratamiento con Rx (1 y 10nM) por 24 h estimula la proliferación de CE (75 y 90% s/control respectivamente, p<0.001) y la inhibe a mayor dosis. La incubación con el antagonista del receptor de estrógenos, ICI 182780 1µM, suprimió el efecto proliferativo de 10nM Rx (1.41 ± 0.19 vs 2.51 ± 0.23; 1.42 ± 0.15 vs 1.54 ± 0.18 cpmx10³/mg prot; control vs Rx -/+ ICI 182780, 24 h, p<0.01). En CMLV demostramos que Rx inhibe la síntesis de DNA a todas las dosis ensayadas (1nM-1µM) (87-120% de inhibición, p<0.001). Respecto de Gen demostramos que a bajas concentraciones (0,01 y 0,1 nM) estimula la proliferación de CE e inhibe a mayores dosis (1 y 10 nM). Sobre CMLV, 24 h de tratamiento con Gen (10 nM) estimula la incorporación de ³H-timidina, efecto suprimido por el ICI 182780 (56.3 ± 4.3 vs 154.1 ± 8.7; 60.2 ± 1.4 vs 58.5 ± 2.1 cpmx10³/mg prot; control vs Gen, -/+ ICI 182780, p<0.001). Observamos que ambos SERM reducen significativamente la migración de CMLV luego de 72 h de tratamiento con 10nM Gen ó 10nM Rx. **Conclusión:** tanto Gen como Rx, en forma dependiente de la participación del RE, regulan la mitogénesis de los principales componentes celulares del lecho vascular (CMLV y CE). Ambos SERM inhiben la migración de CMLV, evento fundamental en la progresión de la una lesión vascular.

E.7- INSULINA: RESULTADOS OBTENIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS

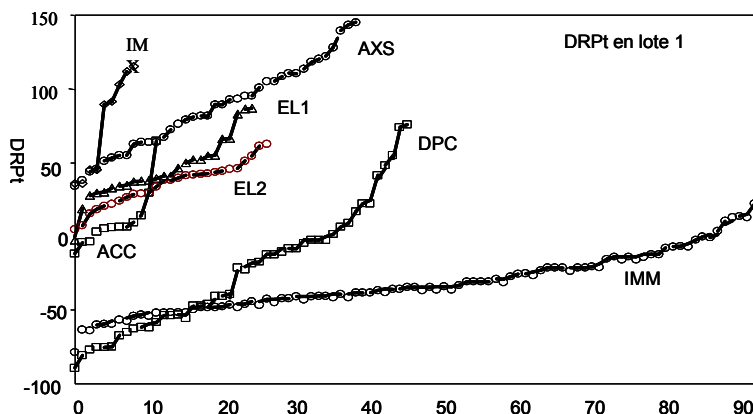
MARIANI V; SOLA MO.

Programa de Evaluación Externa de Calidad (.PEEC) F.B.A. La Plata. Argentina. flialouro@fibertel.com.ar; virginiamariani@gmail.com

Introducción: La existencia de errores aleatorios, se revela por variaciones en sucesivos resultados aún cuando sean realizadas por igual operador, instrumento, etc. **Objetivo:** Comparar y evaluar los resultados recibidos en el PEEC.

Materiales y Métodos: Se distribuyeron alícuotas de suero comercial (BIO-RAD) en cuatro concentraciones de INSULINA. Los equipos comerciales fueron: Coat-A-Count (DPC) e IMMULITE (IMM) de Diagnostic Products Corporation®; IMX (IMX) y AXSYM (AXS) de ABBOTT®; ELECSYS-1010 (EL1) y 2010 (EL2) de ROCHE®; y ACCESS de BECKMAN®. 1) Coeficiente de Variación (CV) 2) Desvío Relativo Porcentual de todos (DRPt): grado de alejamiento del valor informado por el laboratorio respecto a la m_c (media de consenso). **Resultados:** en la tabla I se muestran los promedios, el CV y el n de cada método. En el gráfico se muestran los DRPt del lote 2 obtenidos por cada laboratorio, observándose que DPC e IMM dan valores más bajos.

Tabla 1	6,2 ± 1,1 (lote 1, n=384)			11.7 ± 2.7 (lote 2, n=208)			40.2 ± 4.4 (lote 3, n=340)			105.8 ± 14.3 (lote 4, n=206)		
equipo	m_1	CV_1	n_1	m_2	CV_2	n_2	m_3	CV_3	n_3	m_4	CV_4	n_4
AXS	8.8	1.38	56	17.0	20.1	40	53.4	7.0	53	137.0	11.5	36
IMX	7.8	15.3	23	16.3	11.2	15	52.1	10.1	29	144.2	8.7	24
EL1	6.7	13.9	32	12.1	17.8	17	39.9	12.1	14	108.9	16.0	10
EL2	6.4	11.1	34	11.9	18.3	19	39.3	19.9	19	109.4	13.2	8
IMM	4.3	20.3	112	4.9	10.0	59	22.6	9.0	72	57.8	11.6	48
ACC	5.9	22.7	7	13.9	26.2	15	44.3	23.0	18	107.5	18.9	16
DPC	3.3	46.5	4.9	5.8	61.2	35	27.6	73.8	60	77.1	16.7	30



Conclusiones: 1-No se deben comparar resultados procesados por diferente metodología. 2- IMM y DPC presentan resultados diferentes a otras marcas comerciales. Cabe pensar que existe: a- distinta especificidad de los Anticuerpos monoclonales. b- diferentes estándares.

Epidemiología

EP.1- SIFILIS: ¿EL RESURGIMIENTO DE LA GRAN SIMULADORA?

GIACOMOLLI S; ALVAREZ M; CARRA T; CASATTI M; GONZÁLEZ ML; JUNQUERA L; MARTINEZ C; SCHENKEL V; VIGLIANCO P.

Hospital Interzonal «Dr. José Penna». Bahía Blanca. Argentina.residenteslabopenna@live.com

Introducción: La sífilis es una infección producida por la espiroqueta *Treponema pallidum*. Sus principales vías de contagio son la sexual y la materno-fetal durante el embarazo. Existe un aumento sostenido de su casuística, frecuentemente es subdiagnosticada debido a que la lesión inicial es indolora y puede no detectarse. En nuestro país los principales factores de riesgo son el escaso uso del preservativo, la promiscuidad, la pobreza, la falta de acceso a la atención médica primaria y fundamentalmente la desidia en una educación sexual responsable. **Objetivos:** comparar la prevalencia de esta enfermedad en la población sana y en riesgo de los pacientes atendidos en H.I.G Dr José Penna de Bahía Blanca durante el período 2006-2009. **Materiales y Métodos:** se evaluaron en forma retrospectiva 18.323 registros de pacientes desde el 1 de octubre de 2006 al 30 de septiembre de 2009, a los cuales se les efectuó el test VDRL. Los casos positivos se confirmaron mediante el test treponémico de microhemaglutinación (MHATP). Los datos de cada población se dividieron en 3 periodos que abarcaron los meses de Octubre a Septiembre de cada año. Se empleó el test de chi cuadrado para detectar diferencias con una significación al 5%. **Resultados:** no se encontraron diferencias significativas en la prevalencia en la población global (1,8%; $p=0,3905$), ni en la población en riesgo (3,5%; $p=0,6350$). La población sana evidenció un aumento (0,5%, 1,5% y 1,0% respectivamente; $p=0,0133$). **Conclusión:** nuestras observaciones confirman la sospecha de un aumento de los casos de sífilis en los distintos centros de salud provinciales que ameritan una mayor concientización de la población en nuestra zona de influencia.

Hematología

H.1- ROL DE HEPCIDINA EN INFLAMACIÓN Y SOBRECARGA DE HIERRO

D'ANNA MC; VEUTHEY TV; GIORGI G; GARCIA B; ROQUE ME.

Laboratorio de Fisiología Humana. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. CONICET. Bahía Blanca. Argentina. cdanna@uns.edu.ar.

El secuestro del hierro en el Sistema Reticuloendotelial (SRE) caracteriza a los procesos inflamatorios donde Hepsidina induce cambios en la red de moléculas que lo modulan. El objetivo fue evaluar la expresión de Hepsidina frente a cambios del Fe circulante y de depósito que se presentan en inflamación aguda y sobrecarga de Fe. Ratonos CF1 (n=12/grupo) se agruparon: 1) *Inflamación inducida con Turpentina*: 150i l intraperitoneal (i.p); 2) *Sin Inflamación*: Solución Fisiológica (SF) i.p.; 3) *Sobrecarga de Fe*: Fe-Dextrán i.p.(1gr/kg peso) (días:0,10) ; 4) *Sin Sobrecarga de Fe*: SF i.p (días:0,10). Sangre retro-orbital para ferremia. El Hígado se perfundió y el Fe se cuantificó por colorimetría. El Hígado en formol 10% se procesó para inmunohistoquímica utilizando anti-Prohepcidina con la técnica de inmunoperoxidasa (Envision+System-HRP-DAB). Se utilizó un diseño experimental pareado y los resultados se evaluaron mediante el test t student (p<0.05). En inflamación aguda se evidenció: a) Aumento en la expresión de Prohepcidina en hepatocitos del estroma, respecto a la condición sin inflamación; b) Hipoferremia significativa (116±10ig/dl) respecto a sin inflamación (285±35ig/dl), sin observar cambios en el Fe hepático. En sobrecarga de Fe se evidenció: a) Aumento de expresión de Prohepcidina en hepatocitos del estroma, respecto a sin sobrecarga de Fe; b) Aumento de la Ferremia (582±78ig/dl) respecto a la condición sin sobrecarga (317±40ig/dl); c) Aumentos significativos Fe hepático (1763±490 mmol/gr tejido vs. 117±55 mmol/gr tejido). En inflamación aguda, los cambios del Fe funcional están relacionados con la disminución de su exportación por acción de Hepsidina, origen primario de la hipoferremia. En sobrecarga, el aumento del Fe hepático es un fuerte estímulo para Hepsidina, causando retención, sin observar hipoferremia. Concluimos que en inflamación, el secuestro de Fe en el SRE mediado por Hepsidina, constituiría una ventaja fisiológica para inhibir la biodisponibilidad de Fe, base etiológica de la anemia característica del estado inflamatorio.

H.2- GENOTIPO A PARTIR DEL FENOTIPO EN LEUCEMIAS AGUDAS

IOMMI P¹³; ZANELLA L¹; POMBO P¹³; LANG C²; DI PAOLO D³; BRANDT M³; GARBIERO S³; FERNÁNDEZ V³; AGRIELLO E¹³,

¹Laboratorio de Especialidades Bioquímicas (LEB). ²Laboratorio de Biología Básica del Cáncer, Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca, INIBIBB-CONICET, ³Servicio de Hematología. Hospital Interzonal «Dr. José Penna». Bahía Blanca. Argentina. lebinfo@speedy.com.ar

Introducción: La expresión de determinados patrones proteicos en leucemias agudas se asocia con grupos genotípicos específicos. Estas entidades están incorporadas en la clasificación WHO 2008, y todas definen pronóstico por lo que realizar esta estrategia de análisis es valorable más allá del diagnóstico. **Objetivo:** asociar patrones fenotípicos como orientadores de aberraciones genéticas específicas. **Materiales y Métodos:** Se estudiaron 54 casos de leucemias agudas: 23 leucemias linfoblásticas agudas (LLA) y 31 leucemias mieloblásticas agudas (LMA), con un amplio panel de anticuerpos monoclonales específicos de linajes B, T y mieloides por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) con el propósito de caracterizar a las células neoplásicas. También se realizaron técnicas complementarias como estudios citogenéticos con bandeado G, FISH y biología molecular (PCR). **Resultados:** Con respecto a las LLA: en 4 casos de LLA Pro-B con expresión de CD15+, CD65+ (asociados a línea mieloides) y expresión de NG2 (7.1) se determinaron anormalidades en 11q23 (2 con presencia de MLL-AF4); en 15 casos de LLA-B con patrón CD34+/CD38+ heterogéneo se determinó BCR/ABL, p190; en 3 casos de LLA-B común CD10+, CD34 bimodal se detectó la t(12;21) TEL/AML1 y en una LLA Pre-B con expresión de la cadena pesada i citoplasmática se halló la t(1;19) E2A/PBX1. Con respecto a las LMA: en 25 casos de M3, 6 de ellas M3 variante, con expresión de CD13 heterogéneo, CD33 homogéneo, se encontró la t(15;17) PML/RAR α , y en 6 casos de LMA con expresión de CD19 y /o CD56 se determinó AML1/ETO. **Conclusión:** La asociación fenotipo/genotipo es una herramienta que permite rápidamente guiar el estudio genotípico y las conductas terapéuticas, así como también definir el pronóstico de la enfermedad. Esto se obtiene con un exhaustivo análisis fenotípico de los patrones leucémicos respecto a los normales y evaluando combinaciones de expresión aberrantes (marcadores de líneas distintas al clon leucémico).

H.3- APLICACIÓN DE LA CITOMETRIA DE FLUJO MULTIPARAMETRICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LINFOMA-LEUCEMIA DE BURKITT

LANG C⁴; IOMMI P¹²; POMBO P¹²; ZANELLA L²; BRANDT M¹; FERNÁNDEZ V¹; DI PAOLO D¹; CAFERRI H¹; GARBIERO S¹; PLUNKETT R³; AGRIELLO E¹².

¹Servicio de Hematología. Hospital Interzonal «Dr. José Penna». ²Laboratorio LEB, Bahía Blanca. ³Servicio de Clínica Médica. Hospital Interzonal «Dr. José Penna». ⁴Laboratorio de Biología Básica del Cáncer, Instituto de Investigaciones Bioquímicas Bahía Blanca, INIBIBB-CONICET. Argentina. celang1981@hotmail.com

Introducción: El linfoma-leucemia de Burkitt representa el 2% de los linfomas B. Se origina a partir de una célula centrogerminal con alteraciones que, en la mayoría de los casos, involucran al gen c-myc. Es muy agresivo ya que la tasa de duplicación de las células patológicas es extremadamente corta, lo cual condiciona la evolución clínica de la enfermedad. Se presenta en niños y adultos jóvenes, y en pacientes portadores de VIH determina el status de SIDA. Habitualmente el diagnóstico se realiza en estadios avanzados, donde además de la afectación nodal se puede hallar compromiso extranodal, en sangre periférica o medula ósea. El diagnóstico puede ser realizado por varias técnicas, entre ellas estudios morfológicos, fenotípicos, citogenéticos, o moleculares, no existiendo un único parámetro como gold standard. **Materiales y Métodos:** Se estudiaron 5 casos: 2 pediátricos y 3 adultos jóvenes, 2 de ellos portadores de VIH. Las muestras analizadas fueron: masa abdominal, ganglio, sangre periférica, medula ósea y líquido cefalorraquídeo (LCR), obtenidas por biopsia o punción y aspiración. Las técnicas utilizadas para arribar al diagnóstico fueron: estudios anatomopatológicos e inmunomarcación y análisis por citometría de flujo multiparamétrica (CFM). **Resultados:** En todos los casos se encontró una población B monoclonal, con fenotipo de célula B madura: CD20, CD19, CD22 y CD10+, CD38+++ y bcl2-. La población patológica demostró fase S del ciclo celular mayor al 3%. En los pacientes pediátricos se evaluó el compromiso medular y del sistema nervioso central, siendo positivo en uno de ellos solo el compromiso medular. **Conclusión:** El diagnóstico de linfoma de Burkitt debe ser considerado una urgencia médica por lo que ante su sospecha se deben realizar estudios fenotípicos por CFM dado que, tanto los estudios anatomopatológicos como citogenéticos y moleculares (FISH y PCR), permiten caracterizar la entidad clínica en forma más tardía.

H.4- EL LABORATORIO EN EL MONITOREO DE LA ANTICOAGULACIÓN ORAL: ¿DÓNDE ESTAMOS PARADOS? TENTONI J, LARREGINA A, BERMÚDEZ P, POLINI N.

Unidad de Hematología y Hemoterapia. Hospital Municipal de Agudos «Dr. Leónidas Lucero». Bahía Blanca. Argentina. alarregina@gmail.com

La anticoagulación oral (ACO) presenta características especiales que hacen necesario un riguroso control en su dosificación y una continua vigilancia clínica. Dichas características son: dosis diaria muy variable en cada individuo, interacciones con otros fármacos, interferencia por cambios en la dieta y posibilidad de que aparezcan complicaciones hemorrágicas y/o trombóticas. En este trabajo se compararon retrospectivamente los resultados obtenidos de los pacientes tratados durante el año 2000 (104) con los del 2008 (125) con el objeto de detectar cambios en la población que concurre a nuestro servicio e implementar mejoras. Las comparaciones se efectuaron mediante la prueba no paramétrica de chi cuadrado con una significación del 5%. Observamos un aumento en el número de mujeres atendidas (47%). Al analizarse las causas por las que los pacientes iniciaron la ACO encontramos un marcado aumento en las Trombosis Venosas Profundas (p=0,0032). En relación al rango etario y frecuencia de eventos hemorrágicos (hemorragias digestivas altas, hematuria, epistaxis, proctorragias y gingivorragias) no se observaron diferencias significativas. Las complicaciones trombóticas fueron del 5% en el último período. Estos resultados demuestran un compromiso con el mantenimiento de la calidad de nuestro Servicio llevado a cabo por un médico hematólogo y un laboratorio con procesos estandarizados que demuestran una baja tasa de complicaciones, a pesar de las dificultades de acceso al sistema de salud y la falta de adherencia al tratamiento debido principalmente a la ingesta simultánea de más de cuatro medicamentos.

H.5- MOVILIZACION DEL HIERRO TISULAR: FUNCION DEL TRANSPORTADOR DE METALES DIVALENTES 1 Y DE FERROPORTINA

VEUTHEY TV; D'ANNA MC; PENNACCHIOTTI G; RODRIGUEZ S; ROQUE ME.

Laboratorio de Fisiología Humana. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. CONICET. Bahía Blanca. Argentina. tveuthey@uns.edu.ar

Los procesos de captación, biodisponibilidad y reciclado del hierro son eficientemente regulados en tejidos específicos por proteínas importadoras y exportadoras que conforman la «ruta de hierro». Nuestro objetivo fue establecer en condiciones basales, el nivel del hierro tisular en ratones y relacionarlo con la expresión subcelular del transportador de metales divalentes, DMT1, y del exportador Ferroportina (MTP1). El hígado, duodeno, bazo y riñón de ratones CF1 (30±5g) se fijaron en formol (10%) y se procesaron para inmunohistoquímica utilizando Anticuerpo policlonal anti-MTP1, anti-DMT1 de ratón y la técnica de inmunoperoxidasa (EnVision+System-HRP, DAB). El Fe hepático se cuantificó por colorimetría y el Fe tisular se visualizó por Perl's. El nivel de Fe de hepatocitos en condiciones basales fue $181,53 \pm 50,77$ mmol Fe/g tejido, no observándose pigmentos de Fe. DMT1 se expresó en citoplasma y membrana basal de hepatocitos cercanos a grandes vasos; MTP1 se expresó en células de Kupffer. En enterocitos, se expresaron DMT1 y MTP1, con Perl's negativa. DMT1 mostró intensa inmunoreactividad en el Túbulo Proximal renal (S2/S3), con Perl's negativa. La médula interna mostró marcada inmunoreactividad de DMT1 con localización intracelular; MTP1 mostró un perfil similar. El bazo mostró abundante Hemosiderina y marcada expresión de MTP1 en macrófagos. La expresión de DMT1 en situación basal en enterocitos y hepatocitos, sin pigmentos de Fe, pone en evidencia su rol de proteína importadora Fe. Mientras que, la débil expresión de DMT1 en bazo, asociada a elevados depósitos de Fe, confirma que la fagocitosis macrófágica es el principal mecanismo de captación del Fe esplénico. La presencia de MTP1 en macrófagos esplénicos y hepáticos destaca su función específica de proteína exportadora de Fe en el Sistema Reticulo Endotelial. La presencia de DMT1 y MTP1 en riñón revela el compromiso renal en la homeostasis del Fe.

Inmunología

I.1- ELISA INDIRECTO PARA ANTICUERPOS INCOMPLETOS Y DETECCIÓN DE BRUCELOSIS ACTIVA EN MUESTRAS NEGATIVAS DEL SERVICIO COORDINADOR DEL CENTRO REGIONAL DE HEMOTERAPIA. H.I.G.A.

AZTIRIA M; MARTINEZ A; BIANCHIMANO, A; TAFETANI M; MARY A; DINARDO E; SEVERINI C; PRAT M; BALDI P.
Cátedra de Inmunología. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Hemoterapia. Hospital Interzonal de Agudos «Dr. José Penna». Bahía Blanca. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Argentina. eaztiria@uns.edu.ar

Introducción: Las pruebas convencionales de aglutinación que se aplican en banco de sangre para la detección de anticuerpos anti-*Brucella* pueden dar resultados falsos negativos debido a la presencia de anticuerpos no aglutinantes. Empleando técnicas de interacción primaria (ELISA) es posible detectar este tipo de anticuerpos aumentando la sensibilidad y especificidad diagnóstica. El empleo de un antígeno específico permite confirmar una brucelosis activa. **Objetivo:** Detectar la presencia de anticuerpos incompletos por ELISA-CYT (proteínas citoplasmáticas y LPS) y determinar infección activa mediante ELISA-CP (proteínas citoplasmáticas libres de LPS) en personas con resultado negativo en la prueba de *screening* para brucelosis. **Materiales y Métodos:** se analizaron por ELISA-CYT 191 muestras provenientes del Servicio Coordinador del Centro Regional de Hemoterapia (S.C.C.R Hemoterapia), negativas para la prueba de Huddleson. El índice de positividad se determinó como el cociente entre la lectura obtenida y el valor de corte calculado. Las muestras que presentaron para este ELISA un índice de positividad mayor a 2 para IgG, se estudiaron mediante ELISA-CP. **Resultados:** De las 191 muestras analizadas, 14 presentaron un índice de positividad mayor a 2 para ELISA-CYT. El índice de positividad para ELISA-CP en estos sueros fue siempre menor a 2. **Conclusiones:** En esta cohorte evaluada, que corresponde a una muestra poblacional, no se detectó brucelosis activa aunque algunas muestra presentaron niveles bajos de anticuerpos anti-LPS incompletos.

I.2- EMPLEO DE HUEVOS EMBRIONADOS DE *TOXOCARA CANIS* EN LA PREPARACIÓN DE IMPRONTAS PARA INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA

BIANCHIMANO A; GALVEZ M; AZTIRIA M; MARTINEZ A; COSTAMAGNA S; PRAT M.

Cátedra de Inmunología. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. abianchi@uns.edu.ar.

Introducción: Los métodos de diagnóstico de elección para Toxocarosis humana son los indirectos, que se basan en la detección de anticuerpos en suero. No existen equipos comerciales disponibles para esta determinación por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). **Objetivo:** Evaluar el empleo de huevos embrionados de *Toxocara canis* en la preparación de improntas para la detección de anticuerpos anti-*Toxocara* por (IFI). **Materiales y Métodos:** Se realizó la disección y extracción de los úteros de 8 hembras grávidas. Los huevos no infectivos liberados se colectaron en solución fisiológica estéril. Se lavaron para remover el tejido uterino y se colocaron en solución de formalina al 4% para permitir el desarrollo del embrión. Se prepararon improntas con huevos embrionados decorticados (por tratamiento con hipoclorito de sodio al 5%) y sin decorticar. Las improntas se fijaron con 10 ml de de metanol, a -18°C. Se estudiaron mediante IFI 10 sueros positivos y 10 negativos clasificados por ELISA y Western blot para *Toxocara*. **Resultados:** Los huevos decorticados no se fijaron al portaobjetos. Los huevos embrionados sin decorticar se fijaron adecuadamente. Con los sueros positivos se observa una fluorescencia amarillo verdosa en toda la cubierta y el interior del huevo. Con los sueros negativos no se observa fluorescencia. **Conclusiones:** El proceso de decorticado elimina la cubierta proteica de los huevos, responsable de su adherencia al vidrio. Los resultados preliminares de este trabajo sugieren que las improntas preparadas con huevos sin decorticar serían de utilidad en la detección de anticuerpos anti-*Toxocara spp.* en IFI.

I.3- TRANSMISIÓN VERTICAL DE VIH EN EMBARAZADAS TRATADAS CON TERAPIA ANTIRRETROVIRAL DE ALTA EFICACIA

CASATTI MG; ALVAREZ MV; CARRA TX; FITTIPALDI TN; GIACOMOLLI S; GONZALEZ ML; JUNQUERA LY; MARTÍNEZ CL; SCHENKEL VV; VIGLIANCO PR.

Laboratorio Central. Hospital Interzonal «Dr. José Penna». Bahía Blanca. Argentina. residenteslabopenna@live.com

Introducción: En Argentina ha aumentado la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) en mujeres en edad fértil; esto supone un incremento de la tasa de transmisión perinatal, que es aproximadamente 35%, siendo posible una reducción menor al 2 % utilizando medidas preventivas y terapia con antirretrovirales combinados. La ley 25543 (2001) obliga al personal de salud a ofrecer el test diagnóstico a toda embarazada, para asegurar la detección precoz del VIH y el tratamiento oportuno del binomio madre-hijo. **Objetivos:** Comparar la transmisión vertical en mujeres embarazadas seropositivas, tratadas y no tratadas con el protocolo de alta eficacia. Evaluar la efectividad de dicho protocolo. **Materiales y Métodos:** Se evaluaron retrospectivamente 95 registros de embarazadas seropositivas que concurren al hospital desde septiembre de 1990 hasta julio de 2009. Se clasificaron en número de embarazos con y sin tratamiento. Se realizó el seguimiento de los hijos desde el nacimiento por métodos virológicos, detectando ADN pro viral (PCR)/ ARN viral (PCR) y antígeno p24 para confirmar la infección y a partir de los 18 meses de edad, por métodos de detección indirecta siguiendo el algoritmo de adultos. **Resultados:** De 95 embarazos de mujeres seropositivas, existió transmisión vertical en el 48% (16/33) de las no tratadas y de las tratadas 0%(0/45). Continúan en seguimiento 13 casos que a la fecha son negativos. **Conclusión:** Se evidencia una disminución de la transmisión vertical en mujeres que han recibido tratamiento, coincidiendo con la aplicación de la Ley 25543. En nuestro hospital, la efectividad del protocolo fue del 100%. Esto resalta la necesidad de pesquisar la infección por hiv durante el embarazo.

I.4- MÉTODOS ELECTROFORÉTICOS Y 'WESTERN BLOTTING' APLICADOS AL ESTUDIO DE PROTEÍNAS SEMINALES DE ASCLEPIADOIDEAE

LA COLLA A; GALVEZ M; LENCINAS I; VILLAMIL C; PRAT M.

Cátedra de Inmunología. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. miprat@uns.edu.ar

Introducción: El empleo de métodos electroforéticos es un procedimiento habitual en la tipificación de variedades cultígenas de especies de interés económico (cereales, hortalizas, etc). Existen pocos antecedentes sobre el uso de métodos inmunológicos con igual objetivo. La sistemática interna de la subfamilia Asclepiadoideae (Apocynaceae) así como las relaciones dentro y entre sus géneros es compleja y controversial. **Objetivo:** Estudiar la variabilidad de los perfiles de proteínas seminales de poblaciones de Asclepiadoideae mediante técnicas multiseparativas. **Materiales y Métodos:** 16 extractos de proteínas seminales de *Araujia* y *Morrenia* (Asclepiadoideae) se analizaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (Tricina-PAGE-SDS) y mediante 'western blotting' utilizando como primer anticuerpo anti-*A. hortorum*. Los perfiles de bandas se compararon y se calcularon índices de afinidad cualitativos: coeficiente de Jaccard, S_j . **Resultados:** Los 16 perfiles proteicos obtenidos de poblaciones de *Araujia* y *Morrenia* se mostraron homogéneos cualitativamente. Se contabilizaron entre 17 y 21 bandas por muestra (22 bandas totales) con S_j que variaron entre 0,8 y 1. En los perfiles antigénicos de 10 poblaciones de *Araujia* y *Morrenia* se detectaron entre 12 y 17 bandas por muestra (18 bandas totales), una de las cuales fue particular de los patrones de *Araujia*. Los S_j variaron entre 0,588 y 1. **Conclusiones:** Los resultados cualitativos obtenidos demuestran una considerable uniformidad genética entre las poblaciones comparadas lo que no permite diferenciar inequívocamente cada muestra. Sin embargo, el empleo del 'western blotting', por sus características, incrementa la variabilidad de los perfiles observados sobre todo a niveles específico y supraespecífico.

I.5- EXPRESION DISMINUIDA DE L-SELECTINA EN CELULAS LINFOIDES DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFATICA CRONICA.**ZANETTI S; BORGE M; MORANDE P; NANNINI P; ZWIRNER N; SÁNCHEZ AVALOS JC; BEZARES RF; GAMBERALE R; GIORDANO M.**

Laboratorio de Inmunología Oncológica, IIHEMA, Academia Nacional de Medicina; Hospital Dr T. Alvarez, Instituto A. Fleming. Buenos Aires. Argentina. samzanetti@gmail.com

Introducción: Los pacientes con leucemia linfática crónica (LLC) suelen presentar defectos en su respuesta inmune que podrían estar asociados con alteraciones en la capacidad migratoria y/o funcional de los linfocitos T y células NK. CD62L es una molécula de adhesión de la familia de las selectinas imprescindible para el ingreso de los linfocitos a los nódulos linfáticos.

Objetivo: estudiar la expresión de CD62L en linfocitos T, NKT y células NK de pacientes LLC y controles sanos de edad y sexo comparable. **Metodología:** se aislaron células mononucleares de sangre periférica de pacientes LLC y dadores sanos, y se evaluó la expresión de CD62L en las poblaciones T (CD3+ CD56-), NK (CD3- CD56+) y NKT (CD3+ CD56+) utilizando anticuerpos específicos y análisis por citometría de flujo. **Resultados y Discusión:** Se analizaron muestras de 14 pacientes LLC (8 en estadio A y 6 en B de Binet, 10 CD38-ZAP70-, 2 CD38+ZAP70+, 2 discordantes) y 12 dadores sanos. Se calculó el porcentaje de células positivas para la expresión de CD62L dentro de cada una de las poblaciones señaladas. Los resultados se indican como la media \pm ES del % de linfocitos T, NK y NKT que expresan CD62L en las muestras de dadores sanos versus pacientes LLC. Porcentaje de linfocitos T CD62L+: 68,7 \pm 5,7 vs 47,4 \pm 6,2 (p<0,01). Porcentaje de células NK CD62L+: 44,71 \pm 4,7 vs 26,0 \pm 2,1 (p<0,01). Porcentaje de linfocitos NKT CD62L+: 39,8 \pm 6,2 vs 20,9 \pm 4,2 (p<0,01). Encontramos que la proporción de células positivas para CD62L dentro de cada una de las 3 poblaciones analizadas fue significativamente menor en los pacientes LLC comparado con los controles sanos. **Conclusiones:** en los pacientes LLC, la menor expresión de CD62L en las células linfoides circulantes podría condicionar su capacidad para extravasarse a tejidos linfáticos secundarios.

Microbiología

M.1- MORFOLOGÍA, MORFOMETRÍA Y TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE AMEBAS DE VIDA LIBRE AISLADAS EN EL SUDOESTE BONAERENSE Y EN CHUBUT, ARGENTINA

GERTISER ML¹; BASABE NE¹; RIVERO F²; PÉREZ MJ³; JENSEN O³; VISCIARELLI EC¹; LUJANH³; COSTAMAGNA SR¹.

¹Cátedra de Parasitología Clínica. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. ²Laboratorio de Investigación en Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Católica de Córdoba. ³Dpto de Zoonosis. Chubut. marialaura.gertiser@uns.edu.ar

Las amebas de vida libre (AVL) son protozoarios cosmopolitas y algunas especies pueden causar enfermedad en el hombre. El objetivo del presente trabajo fue identificar morfológica y molecularmente aislamientos de AVL de aguas del Sudoeste bonaerense y de Chubut. Se estudiaron 26 muestras de agua de piscinas cubiertas (P), 14 de tanques domiciliarios (T), 7 del Arroyo Napostá (A) y 7 del río Sauce Grande (SG) del Sudoeste bonaerense y 26 de Sarmiento (S), Chubut. Las muestras fueron analizadas por observación directa y por cultivo en agar no nutritivo. La identificación genérica se realizó por las características morfológicas de quistes y trofozoitos y para identificar *Naegleria* se procedió a la prueba de transformación ameboflagelar. Se tipificaron por PCR utilizando los primers JDP1 (5'-GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA) y JDP2 (5'-TCTACAAGCTGCTAGGGAGTCA). La prevalencia global de AVL en aguas del Sudoeste Bonaerense fue 57,4% (P: 41,9%; A: 22,5%; T: 12,5%; SG: 22,5%) y en aguas de Sarmiento: 65,4%. Todos los aislamientos, según la clasificación morfológica de Pussard & Pons, correspondieron al género *Acanthamoeba* Grupos II y III, con quistes de 5,6 a 13,4 µm de diámetro y de 3 a 6 brazos. Por PCR se confirmaron 6 aislamientos (3 de P; 1 de A; 2 de S). Considerando que el agua representa el principal vehículo en la diseminación de *Acanthamoeba*, recomendamos mantener medidas de prevención adecuadas, especialmente porque las principales especies patógenas de *Acanthamoeba*, agentes etiológicos de encefalitis, queratitis, sinusitis y lesiones cutáneas, pertenecen a los Grupos II y III. Actualmente continuamos con la tipificación molecular del resto de los aislados.

M.2- MICROORGANISMOS AISLADOS EN MUESTRAS RESPIRATORIAS DE PACIENTES FIBROQUÍSTICOS MARTÍNEZ CL; BÁEZ ML; CASATTI MG; FERNÁNDEZ LM; GONZÁLEZ ARRANZ V; RIZZO MS; SANTONI GA.

Hospital Interzonal «Dr. José Penna». Bahía Blanca. Argentina. ceci14martinez@hotmail.com

Introducción: La fibrosis quística, enfermedad autosómica recesiva, es causada por la mutación de un gen en el cromosoma 7 responsable de la producción de la proteína CFTR que regula y participa en el transporte de electrolitos a través de la membrana de las células. La alteración fisicoquímica de las secreciones de las glándulas produce mucosidades bronquiales más espesas facilitando la colonización por patógenos oportunistas. **Objetivos:** Estimar prevalencia de microorganismos recuperados en muestras respiratorias de pacientes fibroquísticos atendidos en el HIG «Dr. José Penna». Correlacionar los aislamientos con el estado clínico de los pacientes. Evaluar resistencia antibiótica de microorganismos aislados. **Materiales y Métodos:** Se analizaron 138 muestras de secreciones respiratorias de 39 pacientes fibroquísticos (1 mes hasta 26 años). Para cultivos bacteriológicos se procesaron muestras de esputo, aspirados nasofaríngeos en agar manitol salado, agar cetrimide y agar chocolate. **Resultados:** De 138 muestras, 25.4% desarrolló microbiota habitual y 74.6% recuperaron uno o más microorganismos patógenos. Los más frecuentemente aislados fueron: *Staphylococcus aureus* 38.4%, *Pseudomonas aeruginosa* 16.7%, *Haemophilus influenzae* 14.5%; *Burkholderia cepacia* 4.3%, *Moraxella catharralis* 3.6%. En el aislamiento de más de un microorganismo la asociación más frecuente fue *Staphylococcus aureus*-*Pseudomonas aeruginosa*. Las historias clínicas registraban signos y síntomas de episodios infecciosos. Meticilino resistencia en *Staphylococcus aureus* fue del 54.7%. *Haemophilus influenzae* presentó resistencia a ampicilina del 35% debido a beta lactamasa. La resistencia por *Pseudomonas aeruginosa* fue: ceftazidima 9.1%; amikacina 55.6%; gentamicina 61.1%; ciprofloxacina 44.4%; tobramicina 37.5%; meropenem e imipenem sin resistencia. **Conclusión:** La frecuencia de microorganismos aislados coincide con la bibliografía mientras que la resistencia antibiótica muestra diferencias propias de la epidemiología local. Los estudios microbiológicos de secreciones respiratorias se deben realizar en pacientes con fibrosis quística para evitar o para conocer la colonización con patógenos que alteran la estructura y funcionalidad pulmonar que impactará la sobrevida de estos pacientes.

M.3- RESISTENCIA A MACRÓLIDOS EN *Streptococcus pyogenes***PEDERSEN D; PANICCIA L; ROSSI G; FERNANDEZ D; OCCHIONERO M.**

Hospital Municipal de Agudos «Dr. Leónidas Lucero». Cátedra de Microbiología Especial. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. mocchion@uns.edu.ar

Introducción: El estreptococo beta hemolítico grupo A (EBGA) o *Streptococcus pyogenes* es el agente etiológico más frecuente de la faringitis bacteriana. Uno de los mecanismos involucrados en la resistencia (R) a macrólidos es la dimetilación inducible o constitutiva de la metilasa que actúa sobre la subunidad 23S ribosomal (fenotipo iMLS_B o cMLS_B respectivamente). Otro mecanismo es el eflujo activo, por el cual las moléculas de macrólidos son expulsadas activamente del interior de las bacterias (fenotipo M), que afecta sólo a los macrólidos pero no a la clindamicina (CLI). **Objetivo:** Determinar la sensibilidad (S) de los EBGA a la eritromicina (ERY), penicilina (PEN) y CLI e inferir el mecanismo de R a los macrólidos. **Materiales y Métodos:** El presente es un estudio retrospectivo. Se analizaron 494 cepas de EBGA provenientes de hisopados faríngeos de pacientes atendidos en el HMALL desde enero 2007 hasta diciembre 2008. Los EBGA fueron identificados por: hemólisis, bacitracina, PYR y serotipificación. Las pruebas de S se realizaron por el método de difusión según NCCLS. Se usaron discos de PEN, ERY y CLI. Se realizó el método del doble disco (ERY-CLI) para detectar los diferentes fenotipos de R. **Resultados:** De las 494 cepas, el 100% fue S a PEN, el 99,8% a CLI, y el 96,2% a ERY. De las 19 cepas R a ERY, el 94,7% presentó el fenotipo M, lo cual sugiere un mecanismo de eflujo activo, y el 5,3% el fenotipo iMLS_B. **Conclusión:** No se observaron EBGA R a PEN. El mecanismo más frecuente de R detectado fue el de eflujo activo. El incremento en este último año del consumo de macrólidos enfatiza la necesidad de continuar con la vigilancia de la resistencia y promover su uso racional.

M.4- EFICACIA DEL KEFIR DE LECHE Y *Lactobacillus casei* EN TRICHINELLOSIS**RANDAZZO V; COSTAMAGNA SR.**

Cátedra de Parasitología Clínica. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. viviana.randazzo@uns.edu.ar

Al no existir un tratamiento efectivo para Trichinellosis, una alternativa para su prevención son los probióticos. Nuestro objetivo fue comparar la eficacia protectora de 2 probióticos frente a la invasión de la mucosa intestinal por *Trichinella spiralis*. Se compararon: *Lactobacillus casei* cepa ATCC 469 y leche fermentada obtenida por actividad de los gránulos de Kefir. 15 ratones BALB/c se distribuyeron en tres grupos: Control («C»), Tratados con *L. casei* («T1») y Tratados con Kefir de leche («T2»). Siete días previos a la infestación con larvas de *T. spiralis* el grupo «C» fue alimentado con 5 ml de solución fisiológica como placebo, «T1» con 5 ml de suspensión en solución fisiológica de *L. casei* y «T2» con 5 ml de suspensión de Kefir. Al octavo día todos fueron inoculados oralmente con 800 larvas infestantes de *T. spiralis*. A los cinco días post-infestación, los animales se sacrificaron humanitariamente para determinar la carga parasitaria en la luz intestinal y en mucosa. Los parásitos de la luz intestinal fueron obtenidos por lavado del intestino con formol 5 %, y los de mucosa intestinal, recuperados por digestión enzimática. Se efectuó recuento de parásitos presentes en cada lugar. Se aplicó ANOVA simple. Se compararon las medias de a pares con Diferencia Mínima Significativa (DMS). El promedio de parásitos obtenidos en contenido intestinal en «C» fue de 160,4, mientras que en «T1» fue de 189 y en «T2» de 191,4, presentándose diferencias significativas para $p < 0,05$ entre «T1» - «T2» y «C». En mucosa el promedio de parásitos hallados en «C» fue de 95,6, en «T1» de 12 y en «T2» de 8,8, presentándose diferencias altamente significativas entre «C» y «T1» - «T2» ($p < 0,01$), no hallándose diferencias significativas entre ambos tratamientos («T1 frente a «T2»). Los resultados demuestran que ambos probióticos, administrados oralmente, producen un efecto antagónico sobre la penetración del parásito en la mucosa intestinal del hospedador.

M.5- HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS EN UN FOCO DE HYMENOLEPIOSIS EN INGENIERO WHITE.

RICO YV ¹; PÉREZ MJ ¹; MILANO PJ ¹; SÁNCHEZ CHOPA C ²; LUCCHI L ¹; COSTAMAGNA S ¹

¹ Cátedra de Parasitología Clínica. ² Cátedra de Invertebrados I. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. ricoyanina@hotmail.com.

El adulto de *Hymenolepis diminuta* se encuentra en el intestino de ratas y accidentalmente del hombre, mientras que el estadio de larva cisticercoide se desarrolla en artrópodos coprozoicos. Debido a su importancia zoonótica, el objetivo del presente estudio fue identificar los artrópodos que podrían actuar como hospedadores intermediarios en un foco de Hymenolepiosis en ratas, en Ingeniero White. Secundariamente buscamos obtener adultos de *H. diminuta* en el modelo experimental de ratón. Para ello se colectaron insectos en dos zonas de muestreo, se fotografiaron, clasificaron, y se buscaron las larvas cisticercoides. La observación se realizó en microscopio óptico en 10X y posteriormente fueron administrados, oralmente, a dos ratones albinos. Además se colectaron muestras de materia fecal de rata, las cuales fueron disueltas en 3ml de solución fisiológica y centrifugadas 10 minutos a 400g; el sedimento fue resuspendido en el líquido remanente y observado al microscopio óptico entre porta y cubreobjetos, a 10X y 40X, investigando la presencia de proglótidas, huevos y restos del parásito. La vitalidad de los huevos se evidenció por coloración con Azul de Metileno. Para obtener adultos de *H. diminuta* en un modelo experimental se trabajó con ejemplares de *Tribolium castaneum* y *Blatella germanica*, y con ratones albinos. El examen coproparasitológico de las muestras de materia fecal de las ratas fue positivo en todos los casos. La cantidad de huevos fue mayor en los meses cálidos, observándose los viables sólo en el mes de abril. Los artrópodos hallados pertenecen a: **Subphylum** Crustácea; **Suborden** Oniscidea; **Subphylum** Uniramia; **Subórdenes** Brachycera, Polyphaga, Caelifera y **Ordenes** Homoptera y Dermaptera. Ninguno fue encontrado infestado. Los estudios coproparasitológicos y biopsias de los ratones de laboratorio arrojaron resultados negativos, de manera que no se logró completar el ciclo del parásito en forma experimental. Por lo expuesto, este estudio continúa, acotado entre febrero y junio próximos.

M.6- ACTIVIDAD INSECTICIDA POR CONTACTO DEL ACEITE ESENCIAL DE

Thymus vulgaris (LABIATAE) EN HUEVOS Y ADULTOS DE *Pediculus humanus capitis* (ANOPLURA, PEDICULIDAE)

GUTIÉRREZ MM; STEFANAZZI N; WERDIN J; FERRERO A

Laboratorio de Zoología de Invertebrados II. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina. mmgutier@uns.edu.ar

Pediculus humanus capitis De Geer (piojo de la cabeza), agente causal de la Pediculosis, es un ectoparasito obligado del hombre confinado al cuero cabelludo y cabellos. Los aceites esenciales se han sugerido como una fuente alternativa para el control de esta plaga. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad insecticida por contacto del aceite esencial de *Thymus vulgaris* en huevos y adultos. El aceite se obtuvo por destilación por arrastre de vapor de agua con un aparato tipo Clevenger. Los bioensayos se realizaron a una temperatura $31 \pm 1^\circ\text{C}$ y 65% de humedad relativa y en oscuridad. Se utilizaron cajas de Petri de vidrio dentro de las cuales se colocaron papeles de filtro de 5,5 cm de diámetro que se rociaron con 100 μl de la solución hexánica del aceite (concentración final: 0,42 mg/cm²) y hexano como control. Después de la evaporación del solvente (dos minutos), se colocaron 10 insectos adultos o 15 huevos del estadio medio de desarrollo. Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento. Para los adultos se calculó el TV50 (Tiempo de Volteo 50) utilizando el programa MicroProbit 3.0. Para los huevos se calculó el porcentaje de inhibición de eclosión (PIE) mediante la fórmula $\text{PIE} (\%) = [(C - T)/C] \times 100$, donde C es el porcentaje de eclosión en el control y T es el porcentaje de eclosión en el tratado. Nuestros resultados indican que el TV50 fue de 6,30 minutos para los adultos y el porcentaje de inhibición de eclosión de los huevos fue del 100%. Como conclusión podemos decir que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* podría ser utilizado como una alternativa en el control de este insecto.

Neurobiología

N.1- MODULACIÓN DEL RECEPTOR DE ACETILCOLINA NICOTÍNICO DEL TIPO α -7 POR LA NICOTINA EN CÉLULAS ENDOTELIALES

AYALA V; BARRANTES FJ.

UNESCO Chair Biophys. & Mol. Neurobiology. Instituto de Investigaciones Bioquímicas. Bahía Blanca. Argentina. vayala@criba.edu.ar

El receptor nicotínico del tipo α -7 (AChR- α -7) es el más abundante en el sistema nervioso, también se lo puede encontrar en otros tejidos como en el bronquial, macrófagos, y endotelio vascular, por lo que se considera a éste receptor clave en la respuesta inflamatoria y patologías relacionadas. La caracterización del rol del AChR- α -7 en la angiogenesis y en patologías del endotelio es clave para entender las bases moleculares y celulares de enfermedades relacionadas con el tabaco, tales como aterosclerosis, algunos tumores, y degeneración macular asociada con la edad. Nosotros estudiamos el efecto de la nicotina sobre la expresión del AChR- α -7 en células endoteliales por microscopía de fluorescencia usando ligandos específicos. La fluorescencia en superficie del receptor marcado con α -BTX-Alexa⁴⁸⁸ varió en forma dependiente del tiempo y concentración de nicotina. Se establecieron las condiciones óptimas para depletar de colesterol a las células endoteliales, usando metil- β -ciclodextrinas, y luego se observó el efecto que este tratamiento tenía sobre la reparación de la injuria endotelial. Se determinó que la depleción de colesterol disminuye la cinética de la migración celular, y que la nicotina por si sola incrementa este efecto, aunque el mismo es drásticamente reducido en células deprivadas de colesterol.

N.2- LA CERAMIDA-1-FOSFATO PROMUEVE EL DESARROLLO Y LA SUPERVIVENCIA DE LOS FOTORRECEPTORES DE LA RETINA.

MIRANDA G; ABRAHAN C; ROTSTEIN N.

INIBIBB. UNS-CONICET. Bahía Blanca. Argentina.

Introducción: En las últimas dos décadas se han establecido roles claves para varios esfingolípidos en procesos celulares esenciales; pero, sus funciones en los fotorreceptores eran virtualmente desconocidas. Trabajos recientes de nuestro laboratorio establecieron que diversos esfingolípidos juegan un importante rol en el desarrollo in vitro de estas neuronas. Determinamos que ceramida y esfingosina son mediadores de la apoptosis, mientras que esfingosina-1-fosfato es una señal intracelular activada por el Factor Neurotrófico Derivado de la Glia y por el Ácido Docosahexaenoico para promover la proliferación y diferenciación. **Objetivo:** Investigar el rol de la ceramida-1-fosfato (C1P), que actúa como señal en algunos tipos celulares, en la regulación del desarrollo y supervivencia de las neuronas fotorreceptoras de retina de rata. **Materiales y Métodos:** cultivos neuronales de retinas de rata recién nacidas (PN0) se suplementaron con y sin C1P (1, 5 y 10 μ M), se sometieron a un pulso de Brdeoxiuridina (BrdU) y se determinó su incorporación mediante inmunocitoquímica. Los cultivos de retinas PN2 se suplementaron con y sin C1P 1 μ M al día 1, se fijaron al día 6 in vitro y luego se determinó la expresión de opsina y periferina mediante inmunocitoquímica y Western Blot. El efecto de C1P sobre la apoptosis se estudió evaluando la integridad nuclear. **Resultados:** La suplementación con C1P aumentó el número de figuras mitóticas y promovió la incorporación de BrdU en los neuroblastos progenitores de fotorreceptores. El agregado de C1P aumentó la expresión de opsina y periferina, proteínas específicas de los segmentos externos de los fotorreceptores, promovió el desarrollo de procesos apicales (PA), rudimentarios segmentos externos, y la localización de dichas proteínas en estos PA. Además, la C1P disminuyó la apoptosis de los fotorreceptores. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos sugieren que la C1P actuaría, como la S1P, como un mediador en la proliferación, supervivencia y diferenciación de los fotorreceptores.

N.3- ACCION DE INSULINA SOBRE LA DAGK DE SINAPTOSOMAS DE CORTEZA CEREBRAL E HIPOCAMPO DE RATAS ADULTAS Y SENILES.

ZULIAN S; ILINCHETA DE BOSCHERO M; GIUSTO N.

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca. (UNS-CONICET) sezulian@criba.edu.ar

La insulina posee numerosos efectos en el sistema nervioso central, regulando la supervivencia neuronal, la liberación de neurotransmisores y la plasticidad sináptica. El deterioro de las vías de señalización activadas por la insulina se relaciona con desórdenes neurodegenerativos como los que ocurren en la enfermedad de Alzheimer o en el envejecimiento normal. La DAGK es la enzima que fosforila el diacilglicerol (DAG) para generar ácido fosfatídico (PA), ambos importantes lípidos que participan en la transducción de señales celulares. Hemos reportado que la DAGK de sinaptosomas de corteza cerebral (CC) de ratas es estimulada por la insulina en respuesta al aumento de DAG generando a partir de la activación de las vías PIP2-PLC y PLD-PAP2. El objetivo del trabajo fue evaluar el mecanismo de activación de la DAGK por la insulina, independientemente del aumento de concentración del sustrato, empleando DAG de distinta composición en ácidos grasos, comparando su actividad en terminales sinápticos de CC y de Hip de ratas adultas y seniles. La preferencia por el sustrato 1-estearoil, 2 araquidonoil glicerol (SAG), la mayor actividad en presencia de β -octilglucósido y la insensibilidad a R59022 y R59949, indican una actividad preferentemente debida a la isoforma DAGK ϵ , la que también fue detectada en los sinaptosomas por ensayos de inmunofluorescencia. En los animales seniles se observó en presencia de SAG, que la actividad DAGK fue menor a la de adultos tanto en CC como en Hip. Sin embargo, la insulina incrementó la actividad DAGK de adultos y seniles, siendo mayor el estímulo en sinaptosomas de Hip de ratas envejecidas a partir de SAG. Nuestros resultados sugieren que la formación de 18:0-20:4 PA, inducida por insulina, podría ser importante en la síntesis de lípidos de inositol en la sinapsis y resultar responsable de uno de sus efectos benéficos en el cerebro.

Índice alfabético de Autores

Abrahan C	33	Gamberale R	29
Agriello E	24, 25	Garbiero S	24, 25
Alonso TS	13, 2	Garcia B	24
Alvarez MV	18, 23, 28	Gaveglio V	15
Antista S	20, 21	Gentili C	13
Aveldaño MI	14	Gertiser ML	30
Ayala V	33	Giacomolli S	18, 23, 28
Aztiria M	27, 27	Gili V	20
Baccini L	20, 21	Giordano M	29
Baez ML	30	Giorgi G	24
Baldi P	27	Giusto N	10, 15, 34
Barrantes FJ	33	González Arranz V	30
Basabe NE	30	González ML	18, 23, 28
Bermúdez P	25	Guardiola FM	17
Bezares RF	29	Guinzburg M	20, 21
Bianchimano A	27, 27	Gutiérrez MM	32
Boland R	13, 15, 16, 16	Ilincheta de Boschero M	34
Boltsis ML	19	Iommi P	24, 25
Bonini IC	13	Jensen O	30
Borge M	29	Junquera L	18, 23, 28
Bouzat C	11, 14	Katz S	16
Brandt M	24, 25	Kaufer F	9
Bucciarelli A	17	La Colla A	28
Buschiazzo J	13	Lang C	24, 25
Buzzi N	13	Larregina A	25
Cafferri H	25	Lencinas I	28
Calvo N	13	Levin M	6
Campelo A	19	Lezcano V	15
Carra T	18, 23, 28	López Romero A	21
Casatti MG	18, 23, 28, 30	Lucchi L	32
Costamagna S	27, 30, 31, 32	Lujan H	30
Cutini PH	13, 19, 21	Luquez JM	14
D'Anna MC	24, 26	Mariani V	22
De Rosa MJ	14	Martínez A	27, 27
Di Chiara M	20, 21	Martínez C	18, 23
Di Paolo D	24, 25	Martínez CL	28, 30
Dinardo E	27	Mary A	27
Dionisio L	14	Massheimer VL	13, 19, 21
Esandi MC	14	Mazziotta D	10
Fernández D	31	Milanesi L	16
Fernández ML	30	Milano PJ	32
Fernández P	20, 21	Milczakowskyg MC	17
Fernández V	24, 25	Miranda G	33
Ferrero A	32	Montero S	20, 21
Fittipaldi TN	28	Morande P	29
Furland NE	14	Morelli S	15
Galvez M	27, 28	Nannini P	29

Occhionero M	31	Villamil C	28
Oresti GM	14	Visciarelli EC	30
Osses N	14	Werdin J	32
Paniccia L	31	Zanella L	24, 25
Pascual A	15	Zanetti S	29
Pasquaré S	15	Zenclussen, AC	7
Pedersen D	31	Zulian S	34
Pennacchiotti G	26	Zwirner N	29
Pérez MJ	30, 32		
Plunkett R	25		
Polini NN	18, 25		
Pombo P	24, 25		
Prat M	27, 27, 28		
Pronsato L	16		
Randazzo V	31		
Rauschemberger MB	21		
Reyes JG	14		
Rico YV	32		
Rivero F	30		
Rizzo MS	30		
Rodríguez S	26		
Romero, EL	7		
Ronda A	16		
Roque ME	24, 26		
Rossi G	31		
Rotstein N	33		
Russo de Boland A	13, 13		
Sánchez Ávalos JC	29		
Sánchez Chopa C	32		
Sánchez S	20		
Sandoval MJ	21		
Santillán G	16		
Santoni GA	30		
Scaglia HE	7		
Schenkel VV	18, 23, 28		
Scodelaro Bilbao P	16		
Severini C	27		
Skliar MI	17		
Slavutsky I	6		
Sola MO	22		
Stefanazzi N	32		
Suldrup N	19		
Tafetani M	27		
Tentoni J	18, 25		
Vasconsuelo A	16		
Veuthey TV	24, 26		
Viglianco PR	18, 23, 28		