

# Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica - INFIBIOC de la Universidad de Buenos Aires.

## Historia y actividades actuales

- Regina Luisa Wigdorovitz de Wikinski<sup>1</sup>, Gustavo Alberto Negri<sup>2</sup>

- 
1. Doctora en Farmacia y Bioquímica. Profesora Titular Emérita.
  2. Doctor en Bioquímica. Profesor Titular

Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica -INFIBIOC  
Facultad de Farmacia y Bioquímica – Universidad de Buenos Aires  
Junín 956 – CABA (1113)  
Córdoba 2351 – CABA (1110)  
www.Facultad de Farmacia y Bioquímica.  
Sitios de Interés. Institutos, INFIBIOC  
E-mail: rwikinski@ffyb.uba.ar

## Información Institucional

Por resolución 2283/07 del Consejo Superior de la Universidad de Buenos Aires se aprobó la creación del Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC) dependiente de la UBA y se designaron Directora y Subdirector a la Dra. Regina Wikinski y al Dr. Gustavo A. Negri, respectivamente. Por una resolución posterior del Consejo Superior de la UBA, la próxima designación del Director será por concurso y la del Subdirector por elección del Comité Académico.

INFIBIOC es el ámbito académico donde se desarrollan las investigaciones sobre temas de Fisiopatología y Bioquímica Clínica, promoviendo su interacción y la evolución de ambas disciplinas. Así se generan líneas cuyo avance es favorecido por su pertenencia a un Instituto que obedece a un decidido interés por la investigación y tiene pautas de evaluación externa que priorizan la producción de sus integrantes, su calidad y su impacto en la sociedad, que se ven reflejadas en la formación de tesis y personal docente y técnico de los grupos que lo conforman.

El INFIBIOC cuenta con 14 grupos de estudio e investigación consolidados y 8 en formación (así calificados según las pautas de la UBA), evaluados y subsidiados por UBA, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Becas Carrillo-Oñativia, Fundación Roemmers y otros incluidos en proyectos internacionales.

Pertenecen al INFIBIOC diferentes grupos de las cátedras del Departamento de Bioquímica Clínica, de Fisiopatología, Anatomía Macro y Microscópica y Farmacología, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. A éstos se suma en el año 2008 el grupo adscripto dirigido por la Profesora Titular Consulta Dra. Nilda Fink de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

**Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**  
Incorporada al Chemical Abstract Service.  
Código bibliográfico: ABCLDL.  
**ISSN 0325-2957**  
**ISSN 1851-6114 en línea**  
**ISSN 1852-396X (CD-ROM)**

En abril de 2008 se eligió el Comité Académico constituido por la Directora, el Subdirector, la Directora del Dpto. de Bioquímica Clínica (Profesora Dra. Angela M.R. Famiglietti), y representantes de los investigadores, profesionales, docentes y becarios. En 2008 se agregaron los 8 grupos en formación ya mencionados, 6 de ellos constituidos por integrantes de los grupos consolidados, que iniciaron nuevas líneas de trabajo subsidiadas por UBACYT, CONICET, Roemmers y Carrillo-Oñativía. Desde 2007 se realizan los seminarios de investigación los primeros jueves de cada mes en el aula 10 del primer piso del Hospital de Clínicas a las 14.15 h. Durante el primer año cada grupo presentó sus líneas de investigación, y en los años siguientes los tesis y becarios continuaron informando y discutiendo el estado de avance de sus trabajos.

En la disertación y asistencia a los seminarios participan también integrantes nacionales y extranjeros de otros institutos y universidades. Entre los invitados se contó con investigadores de la Universidad Católica de Chile y de las Universidades de Bologna y de Bari (Italia). En 2009 se realizó un Homenaje a la Trayectoria del Dr. Juan Miguel Castagnino con la intervención del Decano Dr. Alberto Boveris, el Subdirector de INFIBIOC Dr. Gustavo Negri y la presentación del homenajeado a cargo del Dr. Marco Pizzolato. En esa oportunidad el Dr. Juan Miguel Castagnino disertó sobre temas de Proteómica. En 2010 el Instituto, la Facultad de Farmacia y Bioquímica y la Fundación Bioquímica Argentina invitaron al Dr. T. Nakajima (Japón) como Profesor Honorario. El Seminario Extraordinario fue presentado por el Decano Dr. Alberto Boveris, la Dra. Laura Schreier y consistió en una disertación del Dr. Nakajima sobre Remanentes de Lipoproteínas y Aterosclerosis. La visita del Dr. Nakajima promovió un interesante intercambio científico en INFIBIOC.

La difusión de los seminarios se realiza por correo electrónico "a todos" en la Facultad de Farmacia y Bioquímica, y además existen recordatorios impresos.

## Breve historia del Instituto

En la FFyB numerosos grupos de investigadores trabajaban en Laboratorios registrados en la UBA, como grupos independientes desde el punto de vista de la investigación, como parte de los Departamentos que se constituyeron en la Facultad en 1993. Debido a que en el Estatuto de la UBA figuran los Institutos como unidades donde se realiza investigación, pero como no existía una reglamentación que les diera normativa, la Secretaría de Ciencia y Técnica y algunos miembros de la Comisión de Investigaciones trabajaron en la redacción de la resolución (CS) 5042/05 que finalmente le dio marco a los Institutos de la Universidad. Esa reglamentación fue modificada recientemente y este Instituto se atiene a las nuevas normas.

En la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por otro lado, los grupos y Laboratorios que se dedicaban a la docencia y a la investigación tuvieron la oportunidad de organizarse a través de objetivos comunes. El INFIBIOC es uno de los Institutos de la UBA que se creó en el marco de la Resolución 5402/05. Los grupos tuvieron proyectos y subsidios a partir de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UBA, generalmente al regreso de los futuros directores de sus estadías de formación en diferentes laboratorios de los Estados Unidos, Francia, Italia, Canadá y otros países. Los grupos se formaron coincidentemente con la designación de los docentes que forman parte de INFIBIOC, destacándose el grupo del Dr. Marco Pizzolato en Proteínas y Disproteïnemias, el Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas fundado por la Dra. Regina Wikinski y dirigido en la actualidad por la Dra. Laura Schreier con el asesoramiento de la Dra. Wikinski, que incluye los proyectos nuevos de los Dres. Brites y Berg; el de Gastroenterología y Enzimología Clínica dirigido por el Dr. Gustavo Negri, el de Microbiología, actualmente dirigido por los Dres. Ramón de Torres, Angela Famiglietti, Carlos Vay y Marcelo Rodríguez Fermepin; los Dres. Gabriela Mendeluk y Luis Palaoro dirigen el grupo de Citología y Reproducción, y la Dra. Marta A. Carballo el de Citogenética Toxicológica. Esos grupos encontraron coincidencias en sus objetivos con los de los Dres. Belisario Fernández, Profesor Consulto de Fisiopatología, con el del Dr. Carlos Taira en Farmacología Cardiovascular y con los de los Dres. Ana M. Puyó, y Horacio Peredo. Tiempo después se incorporaron los Dres. M. Cecilia Carreras y Alberto Lazarowski. Todos estos grupos tenían subsidios de la UBA, varios de ANPCyT y de CONICET, su existencia como grupos independientes era ampliamente reconocida y la creación del Instituto retomó los vínculos preexistentes, los puso en comunicación más estrecha y creó nuevos lazos. La cooperación para la realización de seminarios mensuales, la participación en proyectos compartidos, el asesoramiento metodológico y el uso de las aulas y equipamiento creciente, demuestran que este Instituto tenía antecedentes de trabajo y creatividad colaborativos, y que fue necesaria la voluntad consensuada para que tuviera vida formal. En el año 2008 se adscribió el grupo de Hematología Básica y Clínica dirigido por la Profesora Consulta Dra. Nilda Fink de la UNLP, aportando nuevos temas y una visión estratégica en Bioquímica.

El claustro de investigadores formados, que poseen título académico de Doctor está constituido por 46 personas, 3 de ellos defendieron sus tesis doctorales en el año 2010, dos de los anteriores becarios de CONICET obtuvieron becas post-doctorales. En el INFIBIOC hay 11 miembros de CONICET, 8 de ellos son directores de grupos de investigación consolidados o en formación.

## Integrantes

Personal	Docentes	No docentes	Institución origen*	Total
Investigadores	46	-	UBA, UNLP, CONICET	46
Auxiliares	54	-	UBA, UNLP, CONICET	54
Becarios	31	-	UBA, CONICET, ANPCYT, UNLP, UNL	31
Técnicos	2	1	UBA, CONICET	3
Administrativos		1 compartido con DBC	UBA	1
<b>Total</b>	<b>133</b>	<b>2</b>		<b>135</b>

\* UBA, CONICET, ANPCYT, OTRAS (especificar) DBC Depto. de Bioquímica Clínica, Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA.

<b>Director</b>				
Nombre y apellido	Título (grado más alto)	Cargo docente	Dedicación	Condición*
Regina Wigdorovitz-Wikinski	Doctora en Farmacia y Bioquímica-UBA	Profesora Titular Emérita	Exclusiva	Extraordinario

\* Extraordinario, regular, interino, *ad honorem*

<b>Sub-Director</b>				
Nombre y apellido	Título (grado más alto)	Cargo docente	Dedicación	Condición*
Gustavo A. Negri	Doctor en Bioquímica-UBA	Profesor Titular	Exclusiva	Regular

\* Extraordinario, regular, interino, *ad honorem*

<b>Grupos de investigación</b>	
Director/a	Número de integrantes
Dra. Laura Schreier/Dra. Regina Wikinski *	8
Dra. Gabriela Berg +	4
Dr. Fernando Brites +	5
Dr. Gustavo A. Negri*	6
Dr. Marco Pizzolato*	5
Dra. María Cecilia Carreras *	5
Dra. Angela Famiglietti *	7
Dr. Ramón de Torres*	5
Dr. Carlos Vay*	8
Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin +	6
Dr. Belisario Fernández*	9
Dr. Martín Rodríguez Fermepin +	3
Dr. Carlos Taira *	7
Dr. Christian Höcht+	5
Dra. Nilda Fink *	3
Dr. Alberto Lazarowski +	5
Dra. Gabriela Mendeluk/Dr. Luis Palaoro*	8
Dr. Daniel Bustos +	4
Espec. Alejandra Scaziota +	5
Dra. Ana María Puyó/Dr. Horacio Peredo *	5
Dra. Marta Carballo *	5
Dra. Susana Cavallero/Dr. Marcelo Choi +	3

\* Grupo consolidado, + Grupo en formación. De acuerdo con las pautas de la UBA son grupos consolidados aquellos que vienen desarrollando una línea de trabajo y están dirigidos por investigadores que han estado a cargo de dichos grupos en Programas de Investigación anteriores, con resultados aprobados. Los grupos en formación están dirigidos por investigadores pertenecientes a grupos consolidados, que no habían dirigido grupos anteriormente. En algunos casos, los grupos en formación están a cargo de investigadores que ya han tenido proyectos acreditados por CONICET, ANPCYT y otras fuentes de financiamiento. Generalmente los directores de los grupos en formación prefieren seguir siendo, además, integrantes de grupos consolidados.

## Campo científico/áreas de investigación de la Bioquímica Clínica, Fisiopatología y Farmacología Cardiovascular

- Lipoproteínas y Aterosclerosis
- Gastroenterología y Enzimología Clínica
- Proteínas y Gammapatías monoclonales
- Microbiología e Inmunología Clínica
- Péptidos Natriuréticos, Angiotensina y Factores Neurotróficos en diversos estados fisiológicos y fisiopatológicos
- Citogenética Humana y Genética Toxicológica. CI-GETOX
- Estudios mitocondriales y marcadores tisulares en enfermedades inflamatorias y tumorales
- Farmacología cardiovascular
- Citología exfoliativa y de la reproducción
- Síndrome Metabólico Experimental
- Hematología Básica y Clínica
- Hematología Aplicada
- Variabilidad Biológica
- Hemostasia y Trombosis

## Recursos Físicos (laboratorios, aulas, salas de conferencias/eventos, bibliotecas, equipos informáticos, instrumental, hemerotecas, centros de documentación, otros)

El INFIBIOC cuenta con laboratorios, aulas, biblioteca, el Servicio Informático de Laboratorio que conecta alrededor de 55 computadoras. La Facultad de Farmacia y Bioquímica presta Servicios a través de la Secretaría de Informática y se recurre a los distintos LANAIS cuando es necesario. El instrumental se comparte entre el Depar-

tamento de Bioquímica Clínica (DBC) y los grupos de las cátedras de Fisiopatología, Anatomía Macro- y Microscópica y de Farmacología Cardiovascular. La sede de los últimos tres grupos se encuentra en la calle Junín 956, en tanto que el DBC funciona en los pisos primero, tercero y sexto del Hospital de Clínicas José de San Martín, Córdoba 2351. El origen de los equipos es variado; algunos pertenecen al instrumental del DBC que se utiliza para asistencia, docencia e investigación. Otros equipos se adquirieron con subsidios de UBA, CONICET, ANPCYT. Los equipos comprados con subsidios UBA fueron donados reglamentariamente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Otros equipos como el citómetro de flujo, se compró durante el Decanato de la Dra. Wikinski; el CONICET lo puso bajo su dirección y se ubicó en el Instituto de Inmunidad Humoral-IDEHU UBA-CONICET. Su utilización es supervisada por las Profesoras Dras. Silvia Hajos, Juliana Leoni y Regina Wikinski. Este equipo fue donado al CONICET.

El aula 10 del Hospital de Clínicas es utilizada para la realización de los seminarios generales. En el sector docente del DBC se encuentra un aula para la reunión de grupos más pequeños. Ambas aulas cuentan con equipos de proyección y medios audiovisuales. Para eventos especiales se utiliza la Sala de Conferencias de la Facultad.

Los laboratorios del DBC, de las cátedras de Fisiopatología, Anatomía y Farmacología, y sus bioterios donde desempeñan sus actividades de investigación los miembros del INFIBIOC, se encuentran en el edificio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cada grupo recibe algunas revistas especializadas que se comparten a pedido. En el mismo piso del INFIBIOC funciona la Biblioteca Central del Hospital de Clínicas, que está en red con otras bibliotecas. Se utiliza habitualmente la Biblioteca de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, aunque las consultas por Internet de las revistas que poseen convenio con la UBA es el medio más frecuente. El equipamiento es amplio y variado, de acuerdo con las necesidades de los grupos y se comparte, sin restricciones.

## Proyectos de investigación acreditados

## Proyectos UBACYT vigentes

Proyectos UBACYT – Programación Científica 2008-2010 y otros vigentes durante el período considerado (2006-2010)		
Código	Título del Proyecto	Directores/ Codirectores
B070	Aterogenicidad de VLDL en la esteatosis hepática no-alcoholica asociada al síndrome metabólico.	Dra. Laura Schreier, Dra. Regina Wikinski
B403	Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular e indicadores de resistencia insulínica en pacientes con acromegalia activa.	Fernando Brites
B401	Rol de la obesidad y la insulino-resistencia en el desarrollo y severidad del cáncer de próstata.	Gabriela Berg.
B108	Viejos patógenos con nuevos problemas.	Angela Famiglietti.
B084	Emergencia de nuevos patógenos con dificultades diagnósticas.	Carlos Alberto Vay.
B046	Evaluación de factores de la respuesta inflamatoria como predictores de problemas gestacionales y parto.	Ramón A. De Torres
B093	Estudio de la interacción mieloperoxidasa-ceruloplasmina en enfermedades inflamatorias. De la fisiopatología a la bioquímica clínica.	Gustavo A. Negri María B. Di Carlo
B102	Parámetros bioquímicos como factores de pronóstico en pacientes con mieloma múltiple pos-trasplante autólogo de médula ósea (tamo).	Marco A Pizzolato
B113	Péptidos natriuréticos y angiotensinas: Efectos fisiológicos y su participación en patologías cardiovasculares y renales.	Belisario E Fernández
B040	La exposición a xenobióticos y la inducción de modificaciones en el material genético: evaluaciones <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> y su relación con mecanismos de resistencia.	Marta Carballo
B077	Adrenoceptores y receptores AT1: estudios farmacológicos en la hipertensión experimental.	Carlos Alberto Taira
B411	Adrenérgicos de tercera generación en modelos de hipertensión experimental.	Christian Höcht
B031	El Laboratorio de fertilidad en el desarrollo y aplicación de la tecnología bioquímica en la era del ICSI.	Gabriela R. Mendeluk Luis Palaoro
B106	Estudio de las alteraciones centrales y periféricas en el modelo de síndrome metabólico por sobrecarga de fructosa en la rata. Efecto de agentes insulino-sensibilizadores e hipolipemiantes.	Ana M. Puyó
B415	Efectos de la UDP-glucosa y otros nucleótidos de purina como agonistas extracelulares sobre la actividad funcional de los leucocitos PMN.	Alberto Lazarowski.
B405	Utilidad de los datos de variabilidad biológica en la validación diagnóstica y la interpretación fisiopatológica.	Daniel Bustos
B069	Efectos de la heparina de bajo peso molecular sobre las propiedades hemostáticas e inflamatorias en mujeres con abortos recurrentes.	Alejandra Scazziota

Proyectos UBACYT – Programación Científica 2006-2009		
Código	Título del Proyecto	Director/a
B810	Caracterización de cepas de <i>Chlamydia trachomatis</i> de origen genital y ocular, estudio de los genes que dirigen el tropismo celular diferencial.	Marcelo Rodríguez Fermepin
B106	Implicancia de las enzimas neutrofilicas en distintos procesos fisiopatológicos. Interacción mieloperoxidasa-ceruloplasmina sérica.	Gustavo A. Negri
B014	Péptidos natriuréticos y angiotensinas: Efectos fisiológicos y su participación en patologías. UBACYT 2004-08.	Belisario E Fernández
B080	Patógenos oportunistas y emergentes en la infección humana. Identificación, sensibilidad a los antimicrobianos e impacto clínico	Carlos Alberto Vay.
B049	Importancia de las colonizaciones e infecciones genitales en la gestación y el parto. Utilización racional de antimicrobianos en el manejo del problema.	Ramón A. de Torres
Programa de Promoción de la Universidad Argentina, Secretaría de Políticas Universitarias, Ministerio de Educación de la Nación.	Ampliación de una Red Sudamericana para la Cooperación en la Investigación Básica y Epidemiológica de las Infecciones por Clamidas- 2009.	Marcelo Rodríguez Fermepin
Programa de Promoción de la Universidad Argentina, Secretaría de Políticas Universitarias, Ministerio de Educación de la Nación.	Fortalecimiento de una Red Sudamericana para la Cooperación en la Investigación Básica y Epidemiológica de las Infecciones por Clamidas- 2008.	Marcelo Rodríguez Fermepin
Universidad Nacional del Sur	Prevalencia de la Infección por <i>Chlamydia trachomatis</i> en mujeres en edad fértil. 24/ZB28	Marcelo Rodríguez Fermepin
ANPCYT 2008-2011	Características y disfuncionalidad de VLDL en el síndrome metabólico asociado a esteatosis hepática no alcohólica. / PICT	Dra. Laura Schreier; Grupo Resp: R. Wikinski, G. Berg, F. Brites, L. Schreier
CONICET- PIP 0931-2009-2011	Biomarcadores de enfermedad cardiovascular aterosclerótica asociados a resistencia insulínica: alteraciones de las funciones antiinflamatoria y antiapoptótica de HDL.	Fernando Brites

## 4.1.2 Otros proyectos

<i>Proyecto Título</i>	<i>Vigentes 2009*</i>	<i>Concluidos (2007-09)*</i>	<i>Fuentes de financiación Código. Directores (resolución N°)</i>
Patógenos oportunistas y emergentes en la infección humana. Identificación, sensibilidad a los antimicrobianos e impacto clínico		X 2004-2007	UBACYT B 080 Director: Carlos Alberto Vay
Importancia de las colonizaciones e infecciones genitales en la gestación y el parto. Utilización racional de antimicrobianos en el manejo del problema.		X 2004-2007	UBACyT B049 Director: Prof. Dr. Ramón A de Torres
Ampliación de una Red Sudamericana para la Cooperación en la Investigación Básica y Epidemiológica de las Infecciones por Clamidas” 2009	X		Programa de Promoción de la Universidad Argentina, Secretaría de Políticas Universitarias, Ministerio de Educación de la Nación. 2009. Director: Prof. Dr. Marcelo Rodríguez
Fortalecimiento de una Red Sudamericana para la Cooperación en la Investigación Básica y Epidemiológica de las Infecciones por Clamidas		X 2008	Programa de Promoción de la Universidad Argentina, Secretaría de Políticas Universitarias, Ministerio de Educación de la Nación. 2008. Director: Prof. Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin.
Prevalencia de la Infección por <i>Chlamydia trachomatis</i> en Mujeres en Edad Fértil		X 2006-2008	Universidad Nacional del Sur. 24/ZB28. Director: Prof. Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin.
Características y disfuncionalidad de VLDL en el síndrome metabólico asociado a esteatosis hepática no alcohólica.	X 2008-2011		ANPCyT/ PICT 195 Directora: Dra. Laura Schreier; Grupo Resp: R. Wikinski, G. Berg, F. Brites, L Schreier
Biomarcadores de enfermedad cardiovascular aterosclerótica asociados a resistencia insulínica: alteraciones de las funciones antiinflamatoria y antiapoptótica de HDL	X 2009-2011		CONICET PIP 0931 Director: Dr. Fernando Brites. Investigadores: Prof. Dra. Laura Schreier
Alteraciones de la funcionalidad de HDL en inflamación crónica asociada a elevado riesgo de enfermedad cardiovascular.	X 2009-2010		INSERM (Francia) – CONICET Responsable francés: Prof. Dr. John Chapman. Responsable argentino: Prof. Dr. Fernando Brites.
Factores de riesgo emergentes en coronariopatías. Moléculas de adhesión, hipertrigliceridemias y alteraciones moleculares de HDL.		X 2005-2008	CONICET PIP 6111 Res 3003/06 Directora Prof. Dra. Regina Wikinski. Investigador Fernando Brites
Lipoproteínas atípicas, ácidos grasos libres e injuria endotelial asociados a resistencia insulínica y procesos aterogénicos.		X 2004-2007	UBACyT. /B069 Directora Prof. Dra. Regina Wikinski.

## 4.1.2 Otros proyectos

<i>Proyecto Título</i>	<i>Vigentes 2009*</i>	<i>Concluidos (2007-09)*</i>	<i>Fuentes de financiación Código. Directores (resolución N°)</i>
Procesos aterogénicos en la postmenopausia: Remanentes de VLDL, subespecies de LDL, marcadores de injuria endotelial y de matriz subendotelial.		X 2004-2008	ANPCYT / PICT 14299 II.3 (Salud), Director: Prof. Dra R. Wikinski.
Efectos fisiológicos de los Péptidos Natriuréticos ANF, BNP y CNP y la Angiotensina II. Su participación en patologías cardiovasculares y renales.		X 2003-2008	ANPCYT PICT/05-13775. Director Prof. Dr. Belisario E Fernández
Participación de los péptidos natriuréticos y angiotensinas en la hipertensión arterial, la hipertrofia de miocardio y en la fisiología y el daño renal.	X 2005-2009		CONICET7PIP 6161. Director Prof. Dr. Belisario E Fernández.
Participación de péptidos natriuréticos y angiotensinas en la hipertensión arterial, la hipertrofia de miocardio y en la fisiopatología del daño renal.	X 2009-2011		CONICET PIP 112-200801-01337. Prof. Dr. Belisario E Fernández.,
Evaluación riesgo-beneficio en el consumo de plantas medicinales de la Flia. Verbenaceae de la Flora Argentina: importancia de los polifenoles	X 2007-2010		ANPCYT PICT ET 38238 – Director Prof. Dra. Marta Carballo
Aneuploidogénesis, <i>hot spots</i> genómicos y estrés oxidativo como herramientas para la evaluación de daño por xenobióticos		X 2004-2007	UBACYT B034 - Director Prof. Dra. Marta Carballo
La translocación de óxido nítrico sintasa inducible como mecanismo del daño nitrosativo mitocondrial en la endotoxemia			ANPCYT7PICT/14199 Director Prof. Dra. María Cecilia Carreras
La translocación mitocondrial de óxido nítrico sintasa inducible es responsable del daño mitocondrial en la endotoxemia	X 2006-2009		CONICET/ PIP 2005 N°5495. Director: Prof. Dra. María Cecilia Carreras
Oxido nítrico mitocondrial y los límites del crecimiento.	X 2009-2012		ANPCYT PICT./ 01625. Director: Prof. Dra. María Cecilia Carreras
Modelo de síndrome metabólico por sobrecarga de fructosa en la rata: alteraciones centrales y periféricas e implicancias farmacológicas	X 2009-2011		ANPCYT./PICT 07/00994. Director Dr. Carlos Alberto Taira. Grupo responsable: Dr. Carlos A. Taira, Dra. Ana M. Puyó, Dr. Horacio A. Peredo, Dr. Christian Höcht.
Estudio de sustancias vasoactivas en modelos de alteración metabólica en la rata. Efectos del vanadio y de las tiazolidindionas		X 2005-2008	CONICET/PIP Dr. Horacio Peredo.



## Publicaciones (2007-2009)

Tipo de publicación	Total
Libros	7
Capítulos de libro	40
Artículos en revistas especializadas	237
Publicaciones de actas en congresos (1)	220
Presentaciones en reuniones científicas (2)	387

(1) se registran conferencias y relatos unipersonales. (2) se registran comunicaciones de resultados de trabajos científicos

Publicaciones internacionales	
Con referato 207	Sin referato
Publicaciones nacionales	
Con referato 30	Sin referato

Se registran solamente las publicaciones con referato que figuran en índices internacionales.

## CORRESPONDENCIA

PROF. DRA. REGINA W DE WIKINSKI

Junin 956 – CABA (1113)

rwikinski@ffyb.uba.ar - rwikinski@fibertel.com.ar

## SEMINARIOS de INFIBIOC

Graciela Inés López<sup>1\*</sup>

1. Bioquímica, Especialista en Bioquímica Clínica, Áreas Química Clínica y Gestión de Calidad y Auditoría, UBA

\* Coordinadora de Seminarios de INFIBIOC. Jefe de Trabajos Prácticos del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Coordinadora Asistencial del Área Lípidos y Lipoproteínas del Hospital de Clínicas José de San Martín. E-mail: gilopez@ffyb.uba.ar

Los seminarios del Instituto son un lugar de encuentro, foro de análisis y debate para los miembros de los grupos de investigación que lo integran. Están abiertos para todos los investigadores con líneas afines, interesados en participar en un espacio de intercambio, reflexión y aprendizaje.

Los disertantes, en su mayoría becarios, exponen resultados preliminares sobre su hipótesis de tesis doctoral, luego se realiza una discusión con preguntas del auditorio que invitan al disertante a un entrenamiento razonado y propuestas para nuevos experimentos que enriquecen, tanto al disertante como a los concurrentes.

La diversidad de los temas, que van desde ensayos experimentales con animales, órganos o tejidos hasta estudios clínicos con parámetros poco conocidos que requieren validación, se enriquece en algunas oportunidades cuando se utilizan aparatos de diseño propio. También

se presentan experiencias con herramientas metodológicas y tecnologías que brindan elementos de aplicación para la práctica clínica, tanto en el diagnóstico como en el tratamiento, teniendo en cuenta que los seminarios se realizan en el marco de un hospital universitario, el Hospital de Clínicas de la Universidad de Buenos Aires.

Como parte del programa de seminarios se ha contado con la participación de especialistas nacionales como el Dr. Juan Miguel Castagnino a quien se le ha realizado un Homenaje a su Trayectoria, y que nos brindó una Conferencia Extraordinaria sobre Proteómica y metodología para el estudio de proteínas.

También se ha contado con la visita de investigadores de otras universidades, como el Dr. Nakajima en el mes de mayo del 2010, del *Lipid Metabolism Laboratory de Kanazawa University*, Japón que brindó una Conferencia sobre el "Rol de las lipoproteínas remanentes postprandiales en la Aterosclerosis".

También entre los disertantes contamos con investigadores de otros institutos que dan a conocer sus experiencias, desde la investigación básica, clínica o epidemiológica afianzando los lazos académicos y profundizando la integración de la comunidad científica en la Argentina. Los grupos de investigación que integran el instituto son la estructura básica y constitutiva de los seminarios mensuales. De las inquietudes e intereses de sus miembros depende el repertorio de temas, donde la preparación, participación y aporte de cada asistente determina la calidad de la discusión, y, por lo tanto, de la construcción conceptual.

# Utilidad de los datos de variabilidad biológica (VB) en la validación diagnóstica y la interpretación fisiopatológica de la información producida por el Laboratorio Clínico

Daniel Nicolás Bustos<sup>1</sup>, Marcela Pandolfo<sup>2</sup>,  
Sandra Muzietti<sup>2</sup>, Beatriz Caracciolo<sup>2</sup>

1. Dr. de la Universidad de Buenos Aires
2. Bioquímica

Lugar de trabajo: Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica-  
INFIBIOC y Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de  
Farmacia y Bioquímica.  
Universidad de Buenos Aires.  
E-mail: dn.bustos@yahoo.com.ar

Cuando en el Laboratorio Clínico se mide una magnitud biológica en una muestra obtenida de un individuo, en general esta muestra es procesada una sola vez y el resultado informado es uno de los resultados posibles de un grupo de valores que se habrían obtenido si la muestra hubiera sido procesada varias veces. Si se repitiera la medición de la magnitud se encontraría que el nuevo valor es semejante al primero, pero no igual. Esto es debido a que la inmensa mayoría de las magnitudes biológicas humanas están sujetas a la propia variabilidad biológica (VB) del analito en cuestión y su medición, a la variabilidad metrológica.

La variabilidad biológica está definida como “la fluctuación del valor de un analito alrededor de un punto homeostático”. La VB tiene dos componentes: VB intraindividual (dentro del mismo individuo) y VB interindividual (entre diferentes individuos).

Los datos de VB han sido utilizados como especificación de calidad analítica, para establecer la significancia de un resultado seriado y para establecer la utilidad de los valores de referencia poblacionales.

En el caso de la interpretación de los resultados seriados, el dato de variabilidad biológica es de gran importancia puesto que el resultado obtenido será significativamente diferente al anterior, siempre que el dato supere a la VB intraindividual del analito y a la variación metrológica. En algunos analitos, como la medición de linfocitos TCD4+, un cambio significativo en relación al dato previo es de fundamental importancia para el tratamiento del paciente. Como se puede ver, los datos de VB son de fundamental importancia en la interpretación de la información proveniente del laboratorio clínico.

Pese a la importancia de la VB en la interpretación fisiopatológica de los resultados del laboratorio, hay analitos para los cuales el dato de VB no ha sido obtenido y por otro lado, hay datos de VB obtenidos sobre poblaciones de sujetos enfermos, como la VB de linfocitos TCD4+ que fue obtenida de sujetos asintomáticos con infección por VIH.

Otro de los problemas es que en la base de datos no existen criterios de partición por sexo de la VB de algunos analitos en los cuales los intervalos de referencia son diferentes en hombres y mujeres, por lo que probablemente también la VB sea distinta.

Los datos de VB podrían también ser de importancia como especificación de calidad en todas las etapas de gestión de un laboratorio clínico: como la estabilidad de los analitos en tubo primario o como límite de error cuando dos instrumentos miden el mismo analito.

El objetivo de nuestro grupo de trabajo es obtener datos de VB, estudiar la VB, en hombres y mujeres, de aquellos analitos en los que los valores de referencia son diferentes por sexo y utilizar los datos de VB en la validación diagnóstica y la interpretación fisiopatológica de la información producida por el laboratorio clínico.

## Referencia bibliográfica

Caracciolo MB, Muzietti SD, Pandolfo MS, Negri GA, Bustos DN. Estabilidad de muestras conservadas en tubo primario: un estudio de 35 analitos de química clínica. Acta Bioquím Clín Latinoam 2007; 41(3): 353-8.

## GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

# Parasitología: ¿reinventada o subestimada?

Claudia Irene Menghi<sup>1</sup>, Claudia Liliana Gatta<sup>2</sup>

1. Dra. en Bioquímica. A cargo del Área Parasitología del Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.
2. Bioquímica. Área Parasitología del Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Lugar de realización: Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica –INFIBIOC– Universidad de Buenos Aires.

Correspondencia: Claudia Irene Menghi. Junín 956, CABA.  
E-mail: cmenghi@fibertel.com.ar

*“Mas naides se crea ofendido  
Pues a ninguno incomodo  
Y si opino de este modo,  
Por encontrarlo oportuno,  
No es para mal de ninguno  
Sino para bien de todos.”*

José Hernández,  
Martín Fierro

En los últimos años la parasitología ha ido evolucionando hasta convertirse en una disciplina que abarca las relaciones parásito-hospedador-ambiente. La historia de la parasitología revela que ya las culturas china, india, persa y egipcia conocían algunos parásitos macroscópicos como ascaridios, tenias, piojos, moscas, mosquitos y ciertas enfermedades parasitarias como esquistosomosis y paludismo, junto con los extractos naturales utilizados para su tratamiento. El término “parásito” es una voz griega que significa (“para”, junto a y “sitos”, trigo, comida), y se aplicaba inicialmente a los empleados públicos y sacerdotes que vivían a costa de las ofrendas. De allí surgió en Grecia el vocablo “parasiteo” que se refería a aquellos empleados públicos que “comían” a costa del Estado: cualquier alusión con respecto a nuestra actualidad es mera coincidencia. Fue en Grecia donde Hipócrates informó la existencia de *Ascaris lumbricoides*, tenias, oxiuros y quistes hidatídicos en diversos animales y el hombre. Con la expansión colonial de los siglos XV-XVI se conocieron numerosos padecimientos exóticos que dieron origen a la medicina tropical. Así, por ejemplo Diego Álvarez Chanca, primer médico graduado que vino al Nuevo Mundo acompañando a Colón en el segundo viaje en 1493, brindó la primera noticia del paludismo que padeció en América el almirante. Anthony van Leeuwenhoek en los siglos XVI-XVII fue

quien logró los mayores avances en la construcción de microscopios y realizó observaciones sobre todo tipo de materiales, inclusive sus propias heces. Sus observaciones sobre “animálculos muy pequeños” lo convirtieron en el primer microscopista del mundo y fundador de la protozoología. En la Argentina, uno de los hitos más importantes de la parasitología se remonta a 1926 con Salvador Mazza y Flavio Niño quienes al frente de la Misión Universitaria para Estudios de la Patología Regional Argentina (MEPRA), diagnosticaron hasta 1946 más de un millar de casos agudos del Mal de Chagas. Los trabajos efectuados por Mazza revalidaron la obra de Carlos Chagas de Brasil.

Diversos fueron los caminos que llevaron a la situación actual de la parasitología.

El progreso de las metodologías ayudó considerablemente en la evolución de esta disciplina desde lo más elemental, como el método de Baermann, hasta los más grandes avances en las técnicas moleculares. Se lograron progresos en cuanto a la especificidad y sensibilidad de los métodos diagnósticos, tanto en la identificación de los antígenos específicos como en las técnicas de ADN. Gracias a la microscopía electrónica se pudo conocer, entre otras, la estructura del complejo apical de los esporozoítos de algunos grupos confusos, lo que llevó a Levine a crear el Phylum Apicomplexa en 1970. Estos hallazgos permitieron esclarecer relaciones, antes desconocidas, entre diversos grupos de protozoarios. La introducción de modelos matemáticos de predicción epidemiológica permitió anticipar el riesgo de brotes epidémicos de parasitosis y diseñar medidas de lucha y así constituir un importante aporte a la medicina preventiva.

Pero el avance de la tecnología no debe obnubilarnos. No es exacto hablar de “nuevas” y “viejas” herramientas en parasitología como quien descarta un papel en el cesto. Ambas herramientas se complementan y cobran mayor o menor importancia según las condiciones socio-económico-ambientales donde se apliquen.

En la actualidad, muchos son los escenarios donde participan distintos enfoques parasitológicos: los problemas ecológicos tales como la contaminación de aguas por parásitos intestinales, la contaminación de efluentes y su descarga en los ríos con las consiguientes repercusiones sobre la salud de las poblaciones y la contaminación de los alimentos con parásitos durante los procesos de manipulación y almacenamiento. Otros factores son los cambios climáticos debidos al calentamiento global, que favorecen el aumento de la incidencia de enfermedades parasitarias infrecuentes en ciertas regiones, y finalmente, la aparición de parásitos oportunistas que comprometen la salud de los enfermos inmunodeprimidos.

En virtud de lo expuesto, ¿no cabría reinventar a la parasitología en la Argentina que ha venido boqueando, tratando de subsistir en las apretadas horas cátedra de enseñanza en las universidades y en la actividad diaria de hospitales y laboratorios clínicos? Su rica historia lo confirma y su importancia en la clínica y diagnóstico lo justifica.

## Referencias bibliográficas

- Cordero del Campillo M, Rojo Vázquez FA. Parasitología General. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 2007.
- Gorodner JO, Merino DE. Patologías regionales y enfermedades emergentes. Rosario: Corpus; 2008.
- Menghi C, Gatta C. Antony van Leeuwenhoek: un tendero holandés con pasión por la observación de "animales pequeños". *Diagn Bioquím Mol* 2005; 6: 18-22.

## Resumen de Proyectos del Grupo de Citología

Dr Luis Alberto Palaoro<sup>1</sup>,  
Dra Gabriela Ruth Mendeluk<sup>2</sup>

1. Dr. de la Universidad de Buenos Aires
2. Dra. de la Universidad de Buenos Aires

Lugar de Trabajo: Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica-INFIBIOC-UBA y Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires  
E-mail: luispalaoro@yahoo.com.ar

El Área de Citología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA) comprende dos sub-áreas: *Citología Oncológica* y *Fertilidad Masculina*, con varias líneas de investigación que se desarrollan de manera independiente o conjunta, y en ocasiones interrelacionándose con otros sitios de investigación.

### Área Citología Oncológica

La relación del virus de Papiloma Humano (HPV) y el cáncer de cuello uterino ha sido probada en numerosos trabajos (1) (2). Desde hace años, este Laboratorio ha realizado diversos aportes en el tema (3-10) Actualmente está trabajando sobre la expresión de un marcador de proliferación celular (AgNOR) y de una proteína de un gen supresor (p16) en biopsias provenientes de lesiones intraepiteliales de bajo grado de cuello uterino (LSIL), para conocer el potencial evolutivo de estas lesiones que aún tienen un comportamiento incierto.

Esta línea de investigación requiere de la intervención de otras áreas: Cátedra de Ginecología del Hospital de Clínicas José de San Martín y Cátedra de Virología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA).

Como parte de este proyecto se desarrollan en este Grupo de trabajo una Tesis Doctoral y una Tesis de Maestría en Biología Molecular.

*Acta Bioquím Clín Latinoam* 2010; 44 (3): 385-433

Otro proyecto, que ha sido presentado para solicitar una Beca Doctoral es el Estudio de los cambios en la expresión de moléculas de adhesión en testículo y cuello uterino durante los procesos de transformación hasta la etapa de invasión. Se estudiarán ciertas moléculas de adhesión en tumores germinales de testículo y en patologías no neoplásicas para intentar dilucidar las causas de la diferente capacidad exfoliativa en ambas condiciones, y la modificación de las uniones intercelulares en lesiones intraepiteliales de cuello uterino. Los cambios en el citoesqueleto favorecerían la movilidad celular y el posterior proceso invasivo (11)

El conocimiento de la modificación de las moléculas de adhesión podría ser de utilidad como factor pronóstico de las lesiones intraepiteliales de cuello uterino, aumentando la sensibilidad del método citológico.

## Referencias bibliográficas

1. Stoler MH. Human papillomaviruses and cervical neoplasia: a model for carcinogenesis. *Int J Gynecol Pathol* 2000; 19: 16-28.
2. Thomison J III, Thomas LK, Shroyer KR. Human papillomavirus: molecular and cytologic/histologic aspects related to cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Human Pathol* 2008; 39: 154-66.
3. Palaoro LA, Szulc M, Giongrande JC, Bariandaran P. Cells with dyskeratotic inclusions in smears from cervix uteri infected by Human Papillomavirus. *Rev Bras Cancerol* 1999; 45: 9-14.
4. Palaoro L, Rocher AE. Células escamosas atípicas de significado indeterminado: un citodiagnóstico subjetivo. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2007; 41: 511-7.
5. Palaoro LA, Blanco AM, Giongrande JC. Configuration of surfaces of epithelial cells infected by Human Papillomavirus. *Rev Bras Cancerol* 1999; 45: 9-18.
6. Palaoro LA, Rocher A, Giongrande JC. Demostración de proteína E 7 de Papilomavirus de tipos 16/18 en biopsias de cuello uterino. *Oncología* 1999; 9: 318-23.
7. Palaoro LA, Blanco AM. Lesiones intraepiteliales de cuello uterino: marcadores bioquímicos y virus de papiloma humano. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2000; 34: 183-208.
8. Palaoro LA, Rocher AE, Blanco AM. Células de Langerhans y lesiones intraepiteliales de cuello uterino. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2002; 34: 51-6.
9. Rocher A, Palaoro L, Blanco AM. Técnica de detección de la región del organizador nucleolar en las células exfoliadas de cuello uterino. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2002; 36: 393-9.
10. Palaoro L, Rocher AE. AgNOR technique could be useful in the differential diagnosis between squamous carcinomatous cells and atypical cells related to human papillomavirus in cervical smears. *Biotech Histochem (England)* 2009; 84: 73-8.
11. Shimoyama Y, Hirohashi S, Hirano S, Noguchi M, Shimamoto Y, Takeichi M. Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Res* 1989; 49: 2128-33.

## Área de Fertilidad Masculina

La microinyección de gametas (ICSI) surgió en 1992 en Bélgica (1) y revolucionó el tratamiento en Andrología. Estudios de mapeo testicular permiten identificar focos de espermatogénesis de donde aislar gametas aún en pacientes azoospermicos, lográndose fertilizaciones exitosas. Sin embargo, poder saltar los procesos de fertilización natural demoró el avance del conocimiento básico en fertilidad y la posibilidad de su abordaje desde la prevención o la medicina clínica. La era del ICSI es concomitante con la era del mejoramiento de la calidad que intenta atribuir un valor clínico real a los estudios realizados en los pacientes, dando al médico herramientas robustas a la hora de tomar decisiones.

En este Grupo se está desarrollando el proyecto en el laboratorio de fertilidad en el desarrollo y aplicación de la tecnología bioquímica en la era del ICSI, subsidiado por UBACYT (B0-31; 2008-2010). Abarca los problemas actuales en el Laboratorio de Fertilidad Masculina; el estudio del ADN, de la membrana plasmática, de la espermatogénesis, de los efectos hormonales, térmicos y ambientales en la fisiología y patología andrológica, así como la evaluación de la calidad de los procedimientos empleados. El objetivo último es la mejora de los estudios en curso y el diseño de nuevos análisis clínicos transferibles al diagnóstico y seguimiento de los pacientes infértiles (2) (3).

Se estudian casos paradigmáticos: varicocele, tuberculosis (4), microlitiasis (5), consumo de anabólicos (6), tabaco (7) (8) antidepresivos (9). Trabajan en la mejora de la calidad (10) y la reflexión sobre el valor clínico del análisis seminal (11-15) así como de los procedimientos empleados para mejorar las técnicas de enriquecimiento (16).

Respecto al estudio del ADN, se está poniendo a punto la determinación de bases oxidadas (Colaboración -Química Analítica, FFyB, UBA). Se utilizará como biomarcador de factores ambientales que afectan la calidad espermática y como predictor de éxito en programas de fertilización asistida.

La propuesta consiste en estudiar la membrana espermática por métodos biofísicos y bioquímicos de alta complejidad (resonancia paramagnética electrónica y estudios de isomerización de ácidos grasos, respectivamente), trabajos en curso en colaboración con la Cátedra de Física, FFyB, UBA y la Universidad de Belgrano. Esta parte del trabajo está relacionada al interés en lipidómica y uso diagnóstico del análisis de lípidos en muestras biológicas, que es la base del acuerdo firmado entre el CNR (Italia) y la Universidad de Belgrano. El plan ha dado lugar a la presentación de una Solicitud de Financiamiento para Proyectos de Investigación PIP 2010-2012 GI titulado: "La isomerización lipídica catalizada por radicales tífos, estudios mecanísticos y aplicaciones clínicas" (Proyecto aprobado).

Para entender los efectos tóxicos ambientales y del estilo de vida sobre la espermatogénesis se desarrolló un

modelo experimental en ratones (Proyecto en colaboración con Citogenética, DBC, FFyB, UBA).

Se plantearon nuevas hipótesis para entender la asociación entre hipotiroidismo y astenozoospermia (17-19) (Colaboración con Endocrinología, DBC, FFyB, UBA): a) Evaluar si los Ac-antitiroideos tienen reacción cruzada con los espermatozoides, b) Estudiar el efecto directo de las hormonas tiroideas sobre la cinética espermática. Está en curso el análisis de las modificaciones en el esqueleto de actina de las células epiteliales de epidídimo de ratas hipotiroideas.

Cabe destacar que este laboratorio realiza tareas asistenciales que comprenden Análisis Clínicos (Área Citología) en cumplimiento de lo asignado por el convenio FFyB y Hospital de Clínicas "José de San Martín" - UBA. Resolución (CD) N° 203/94. Desde el año 1994 en el marco del Programa de Vinculación y Transferencia Tecnológica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, siguiendo los lineamientos del convenio de Asesorías Técnicas y Prácticas de Alta Complejidad (Res. C.S. 1685/97) se realizan servicios a terceros o asesorías técnicas de determinaciones especiales y de alta complejidad en lo relativo a "Estudios funcionales de la Gameta Masculina". Se fueron incorporando distintas prestaciones, la evaluación y procesamiento de muestras de semen para técnicas de fertilización asistida (2003), el estudio de fragmentación del ADN espermático por citometría de flujo (2007) y el análisis automatizado de muestras seminales (2009). Se está realizando la puesta a punto de la metodología de Anexina V en semen para ser ofertado como marcador temprano de apoptosis. En septiembre de 2008 se generó una nueva figura, que se denominó "Entrenamiento en Servicio". La idea es capacitar a profesionales de instituciones que lo requieran en prácticas puntuales que se realizan en este laboratorio. Se desarrolló un Programa de Control de Calidad Externo para el Análisis Seminal (Convenio Marco FFyB,UBA-FABA) del cual participan 81 laboratorios distribuidos en todo el país (2005-actualidad).

Los integrantes de este grupo creen que hacen una investigación acorde a las necesidades del país devolviendo a la comunidad su conocimiento en servicios y realimentándose, cumpliendo de ese modo con el circuito de la mejora continua.

## Referencias bibliográficas

1. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 4: 340: 17-8.
2. Lamb D. Semen analysis in 21<sup>th</sup> century medicine: the need for sperm function testing. *Asian J Androl* 2010; 12: 64-70.
3. Mendeluk G, Sardi-Segovia M, Chenlo P, Pugliese N, Repetto H, Curi S, *et al.* Assessment of human sperm pro-

- tein tyrosine phosphorylation by immunocytochemistry in a clinical andrology laboratory. preliminary data. *Biotech Histochem* 2009; 7: 1-8.
4. López Costa S, Odriozola A, Katz N, Rojas L, Salas J, Lazzarini H, *et al.* Tuberculosis e infertilidad. Reflexiones a partir de cuatro casos. *Revista del Hospital J.M. Ramos Mejía* [on line] 2008;13 (3). Disponible en: URL:<http://www.ramosmejia.org.ar/r/200803/314.pdf>. (Fecha de acceso: 1 de julio de 2010).
  5. López Costa S, Mendeluk GR, Trombini M, Katz N, Salas J., Lazzarini H, *et al.* Microlitiasis testicular. *Revista del Hospital J.M. Ramos Mejía* 2007;12(3) [on line] 2007; 12 (3). Disponible en: URL:<http://www.ramosmejia.org.ar/r/200703/292.pdf>. (Fecha de acceso: 1 de julio de 2010).
  6. Mendeluk GR, Ariagno J, Karayan L, López Costa S, De Miceu, . Anabólicos androgénicos esteroides e infertilidad masculina. *Revista del Hospital J.M. Ramos Mejía* [on line] 2008; 13 (3). Disponible en: URL:<http://www.ramosmejia.org.ar/r/200803/316.pdf>. (Fecha de acceso: 15 de julio de 2010).
  7. Mendeluk GR, López Costa S. Cesación tabáquica. su importancia en la salud sexual y reproductiva masculina. *Revista del Hospital J.M. Ramos Mejía*[on line] 2009; 14 (2). Disponible en: URL:<http://www.ramosmejia.org.ar/r/200902/330.pdf>. (Fecha de acceso: 15 de julio de 2010).
  8. Prentki Santos E, Lopez Costa S, Chenlo P, Pugliese NM, Curi S, Ariagno J, *et al.* Impact of spontaneous smoking cessation on sperm quality. *Andrologia* 2010 (en prensa).
  9. Sardi-Segovia L, Rocher A, Pugliese M, Chenlo P, Curi S, Ariagno J, *et al.* Prognostic value of the study of germ cells in the ejaculate. *Biotech Histochem* 2010 (en prensa).
  10. Curi SM, Ariagno JI, Chenlo P, Pugliese MN, Sardi Segovia LM, Repetto HE, *et al.* Control de calidad externo en el estudio del semen. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008; 42 (2): 183-7.
  11. Ariagno J, Repetto H, Pugliese N, Chenlo P, Mendeluk G, Curi S, Sardi M. Evolución de los criterios de evaluación de la morfología espermática. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008; 42 (3): 502.
  12. Pugliese N, Chenlo P, Repetto H, Blanco A M., Ariagno J, Curi S. Túnel: experiencia en el laboratorio andrológico [on line] 2009. Disponible en: URL:[http://revista.samer.org/ar/numeros/samer2007/n1./resumenes\\_samer\\_final.pdf](http://revista.samer.org/ar/numeros/samer2007/n1./resumenes_samer_final.pdf). (Fecha de acceso:15 de julio de 2010).
  13. Chenlo P, Pugliese N, Mendeluk G, Sardi M, Curi S, Ariagno J. Estudio de asociación entre métodos de evaluación de la cromatina espermática [on line] 2009. Disponible en: URL:[http://revista.samer.org/ar/numeros/samer2007/n1./resumenes\\_samer\\_final.pdf](http://revista.samer.org/ar/numeros/samer2007/n1./resumenes_samer_final.pdf). (Fecha de acceso:15 de julio de 2010).
  14. Curi S, Chenlo P, Pugliese N, Mendeluk G, Ariagno J, Blanco AM. El desarrollo de nuevas tecnologías en el laboratorio de semen. Fragmentación del DNA espermático. *FABA Informa* número 429, julio de 2008.
  15. Ariagno JI, Chenlo PH, Sardi M, Pugliese NM, Mendeluk GR, Repetto HE, Curi SM. Criterios de evaluación de la morfología espermática. *FABA Informa* número 442, agosto de 2009.
  16. Mendeluk GR, Chenlo P, Sardi-Segovia M, Curi S, Ariagno I, Repetto H, *et al.* Usefulness of pentoxifylline to improve semen quality. *Fertil Steril* 2010 (en prensa).
  17. Del Río AG, Palaoro LA, Canessa OE, Blanco AM. Epididymal cytology changes in hypothyroid rats. *Arch Androl* 2003; 249: 247-55.
  18. Del Río AG, Blanco AM, Pignataro O, Niepomnische H, Juvenal G, Pisarev MA. High-affinity binding of t3 to epididymis nuclei. *Arch Androl* 2000; 44: 187-91.
  19. Del Río AG, Palaoro LA, Blanco AM. Epididymal scanning electron microscopy in hypothyroid rats. *Arch Androl* 2001; 45: 73-7.

## Lipotoxicidad hepática asociada a la insulino-resistencia. Su relación con el riesgo cardiovascular

Laura E. Schreier<sup>1a\*</sup>, Valeria Zago<sup>2a</sup>, Diego Lucero<sup>3a</sup>, Verónica Miksztoiwicz<sup>4\*</sup>, Leonardo Cacciagiú<sup>3a</sup>

<sup>1</sup> Doctora en Bioquímica. Profesora Titular del Departamento de Bioquímica Clínica. Cátedra de Análisis Clínicos 1. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

<sup>2</sup> Doctora de la Universidad de Buenos Aires. Jefa de Trabajos Prácticos. Departamento de Bioquímica Clínica. Cátedra de Análisis Clínicos 1. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

<sup>3</sup> Bioquímico. Ayudante de Primera. Departamento de Bioquímica Clínica. Cátedra de Análisis Clínicos 1. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

<sup>4</sup> Bioquímico.

<sup>a</sup> Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica Clínica. Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956. (1113). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. [lipids@ffyb.uba.ar](mailto:lipids@ffyb.uba.ar)

\* A quien deberá ser dirigida la correspondencia, Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junin 956 (C1113AAD), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. *E-mail:* [lipids@ffyb.uba.ar](mailto:lipids@ffyb.uba.ar) Teléfono: 54 11 4964 8297. Fax: 54 11 5950 8691.

La capacidad que tiene el tejido adiposo de almacenar gran cantidad de triglicéridos es única, en cambio otros tejidos, como el hepático o muscular, presentan

una capacidad limitada. Cuando el almacenamiento de grasa en los tejidos no adiposos excede esa capacidad, sobreviene disfunción y posterior muerte celular, constituyendo un mecanismo conocido como lipotoxicidad.

Los estudios sobre patogénesis de la diabetes tipo 2 y la obesidad en animales, dan a conocer el concepto de lipotoxicidad, definiéndola fundamentalmente como una inducción de hiperinsulinemia / resistencia a la insulina por parte del aumento crónico de los ácidos grasos libres (AGL), generando una relación estrecha y cíclica que conlleva al depósito de grasa en tejidos como músculo, páncreas o hígado (1).

Entre los hepatólogos, el hígado graso no-alcohólico emerge como la condición hepática crónica más común en el mundo occidental. Llamativamente, su prevalencia en la población general es semejante a la de la insulino-resistencia (IR), entre 20 a 30% según las diferentes fuentes (2) (3). Más aún, la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) es notoriamente más frecuente en pacientes con síndrome metabólico, obesos y diabéticos tipo 2, llegando a proporciones entre 50 y 75% (4). De hecho, estas entidades de IR constituyen un factor de riesgo de esteatohepatitis.

Si bien en la última década se ha avanzado considerablemente en el conocimiento fisiopatológico de los mecanismos que conducen a la EHGNA, aún existen algunos puntos oscuros y preguntas sin respuestas. Se reconoce que la causa es multifactorial, pero la IR es esencial para la ocurrencia de una secuencia de eventos que determinan una falla de control en el balance entre la llegada de ácidos grasos al hígado, la síntesis intrahepática y su oxidación y/o exportación desde el hígado, que conducirían a la acumulación hepática de triglicéridos.

Como se ha mencionado, un aspecto fundamental en la patogenia de la enfermedad es el incremento de los AGL circulantes en la IR, que son captados por el hígado conformando el *pool* de ácidos grasos intrahepático, al cual también se suman los ácidos grasos provenientes de la dieta, de la lipólisis intravascular de lipoproteínas ricas en triglicéridos, y los aportados por la lipogénesis *de novo*, la cual en condiciones normales es baja. El *pool* de ácidos grasos en el hígado tiene dos caminos destinatarios: la oxidación (o catabolismo) y la esterificación (para almacenamiento o secreción). El balance de estos mecanismos va a depender principalmente del estado hormonal, nutricional y de la regulación por parte de factores de transcripción como el SREBP-1C (*Sterol Regulatory Element Binding Protein -1C*) (5) (6).

La apoproteína (apo) B es imprescindible para la formación de las VLDL, lipoproteínas ricas en triglicéridos de síntesis hepática. La regulación de la síntesis y degradación de apo B es otro factor determinante para la formación de VLDL y su tasa de secreción. La proteólisis o degradación de la apo B ocurre normalmente en

el retículo endoplásmico, pero puede ser previamente protegida por proteínas chaperonas como la Proteína de Transferencia Microsomal (MTP), conocida además por su papel en el ensamblaje de triglicéridos y apo B para conformar VLDL (7).

La coexistencia en los estados de IR del característico aumento en circulación de lipoproteínas ricas en triglicéridos, con la acumulación y depósito de grasa hepática, aparentan ser dos mecanismos opuestos que dificultan la comprensión de un cuadro donde hay sobreproducción y secreción de triglicéridos por un lado y depósito por otro. Estudios recientes tienden a demostrar que el *pool* de triglicéridos intracelular correlaciona con la secreción de VLDL, es decir, más se deposita, más se secreta (8) (9). En estudios preliminares que se han llevado a cabo recientemente, se han observado alteraciones en la composición de las VLDL que podrían aumentar su potencial aterogénico en pacientes con síndrome metabólico y con presencia EHGNA en comparación a los que presentaban ausencia de EHGNA (10). El aumento de factores metabólicos como la proteína transportadora de colesterol, (CETP) y la disminución de la adiponectina en los pacientes con síndrome metabólico y EHGNA, constituirían factores predictores de las modificaciones aterogénicas de VLDL. Resta seguir investigando con el fin de dilucidar si la VLDL secretada en los estados de IR asociados a EHGNA presenta mayores alteraciones, o tal vez las adquiere posteriormente en circulación, determinando un mayor potencial aterogénico.

La esteatosis hepática es también vulnerable a complicaciones secundarias que llevan a inflamación hepatocelular y fibrosis. Esto está vinculado con proteínas bioactivas como TNF $\alpha$  y su antagonista la adiponectina, generadas principalmente en el tejido adiposo visceral, que se encuentran involucradas en la patogénesis de la EHGNA, seguramente tras su llegada vía vena porta al hígado. El TNF $\alpha$  ejerce numerosas acciones como incrementar y mantener la IR e inhibir la oxidación de ácidos grasos, favoreciendo así la esteatosis además de promover la inflamación, mientras que la adiponectina tiene acciones beneficiosas sobre el metabolismo, ya que aumenta la sensibilidad a la insulina, disminuye la lipogénesis, es citoprotectora y se comporta como anti-inflamatoria (11-13). La regulación de ambas citoquinas y la resultante en sus niveles determinarían la transición desde la simple esteatosis a la esteatohepatitis.

El cuadro conformado por la disminución de adiponectina, comprobada en el plasma de pacientes con EHGNA aún en forma independiente de la IR, y por el aumento de TNF $\alpha$ , proteína "C" reactiva –como marcador de baja inflamación crónica-, del PAI-1 (inhibidor del activador del plasminógeno-1) y del fibrinógeno entre otros, condice con un conjunto de factores de conocido riesgo cardiovascular estrechamente vinculados a la EHGNA en sus diversas formas (14) (15). Se suma a estos factores inflamatorios y procoagulantes, la hiperglucemia, el au-

mento de AGL y la sobreproducción de lipoproteínas más aterogénicas. Cada factor por sí mismo y con efectos sinérgicos entre sí pueden alterar la función endotelial mediante diversos mecanismos que acentúan, a su vez, el estado proinflamatorio y las complicaciones vasculares.

La ocurrencia de las asociaciones mencionadas ha dado lugar a un creciente número de estudios y análisis tendientes a revelar si la EHGNA, por sí misma, constituye un nuevo factor de riesgo de aterosclerosis. Uno de los primeros estudios fue publicado en 2005 por Brea A, *et al.* que mostraron resultados significativos de un estudio caso-control, revelando que pacientes con EHGNA, no sólo comparten los factores de riesgo cardiometabólicos asociados al síndrome metabólico, sino que también presentan un mayor engrosamiento íntima-media de la arteria carótida y mayor prevalencia de placas ateroscleróticas. La regresión logística y el análisis multivariado permitieron afirmar que EHGNA es un predictor del engrosamiento íntimal y que sería una situación aterogénica más allá de la IR (16). Paralelamente, otros autores demostraron signos de disfunción endotelial incrementada, midiendo la vasodilatación dependiente del endotelio de la arteria braquial post-isquemia en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica, independientemente de la obesidad y la IR (17). Estos resultados indicarían el desarrollo temprano de la aterosclerosis. Más recientemente, un estudio observacional de cohorte prospectivo en más de 1600 sujetos de la población general, permitió afirmar que la presencia de EHGNA es un fuerte predictor de eventos cardiovasculares, de manera más certera que el síndrome metabólico (18).

Por lo tanto, las evidencias de los últimos años sugieren que si bien los pacientes con simple hígado graso poseen riesgo de desarrollar enfermedades hepáticas terminales como cirrosis y/o hepatocarcinoma, el riesgo cardiovascular sería considerablemente más elevado.

Quedan aún interrogantes como cuál sería el evento fisiopatológico inicial. ¿Es el síndrome metabólico el precursor que promueve la EHGNA y la aterosclerosis o es la EHGNA que estimula el desarrollo del síndrome metabólico y la aterogénesis? Sin embargo, independientemente del mecanismo iniciador, el actual cúmulo de información enfatiza la importancia de evaluar el riesgo cardiovascular total en pacientes con diagnóstico de EHGNA.

## Referencias bibliográficas

1. Unger RH. Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications. *Diabetes* 1995; 44: 863-70.
2. Ruhl CE, Everhart JE. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver. *Clin Liver Dis* 2004; 8 (3): 501-19.
3. Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, *et al.* Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med* 2005; 22 (9): 1141-5.
4. Medina J, Fernandez-Salazar L, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R. Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes Care* 2004; 27: 2057-66.
5. Qureshi K, Abrams G. Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3540-53.
6. Lewis G, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23: 201-29.
7. Gordon D, Jamil H. Progress towards understanding the role of microsomal triglyceride transfer protein in apolipoprotein-B lipoprotein assembly. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1486 (1): 72-83.
8. Adiels M, Taskinen MR, Packard C, Caslake MJ, Sorola Paavonen A, Westerbacka J, *et al.* Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia* 2006; 49: 755-65.
9. Zago V, Lucero D, Macri EV, Cacciagiú L, Gamba CA, Miksztovcz V, *et al.* Circulating VLDL characteristics resulting from fatty liver in an insulin resistance rat model. *Ann Nutr Metab* 2010; 56 (3): 198-206.
10. Schreier L, Zago V, Cacciagiú L, Brites F, Graffigna M, Belli S, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease associated to metabolic syndrome. Relation between VLDL production and adiponectin. *Atherosclerosis* 2008; 9 Suppl 1: 26.
11. Ryden M, Arner P. Tumour necrosis factor-alpha in human adipose tissue -- from signalling mechanisms to clinical implications. *J Intern Med* 2007; 262; 431-8.
12. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, *et al.* Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 64: 679-83.
13. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology* 2004; 40 (1): 46-54.
14. Lizardi-Cervera J, Agilar-Zapata D. Nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease. *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: 40-3.
15. Targher G, Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; 191: 235-40.
16. Brea A, Mosquera D, Martín E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1045-50.
17. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S, Bugianesi E, Magalotti D, Vanni E, *et al.* Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 473-80.
18. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nagata C, Takeda J, Sarui H, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. *World J Gastroenterol* 2007 14; 13: 1579-84.



# Cáncer de Próstata: un estudio acerca de su relación con aspectos metabólicos, hormonales, inflamatorios y psicosociales

Halina Grosman<sup>1</sup>, Bibiana Fabre<sup>2</sup>,  
Viviana Mesch<sup>3</sup>, Gabriela Berg<sup>3</sup>

1. Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica, Area Química Clínica
2. Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica, Area Endocrinología
3. Dra de la Universidad de Buenos Aires

Lugar de trabajo: INFIBIOC, UBA y Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA  
E-mail: gaberg@ffyba.uba.ar

El Cáncer de Próstata (CaP) es el segundo tumor de mayor prevalencia entre los varones occidentales mayores de 50 años, precediéndole al cáncer de piel. Asimismo es también la tercera causa de muerte oncológica en el varón, luego del cáncer de pulmón y de colon, dejando el lugar que ocupaba a fines del siglo XX. Esto se debe a la medida difundida del Antígeno Prostático Específico (PSA), que junto al Examen Digital Rectal son las herramientas de primera línea en el *screening* para la detección temprana de dicha patología, y a los tratamientos más efectivos en los tumores localizados. Cuando el CaP es detectado sin manifestaciones clínicas, es curable en la mayoría de los casos. Por estas razones es que en el Hospital de Clínicas "José de San Martín" se llevan a cabo las Campañas de Detección Temprana del CaP, las cuales son gratuitas para los pacientes y se realizan en forma interdisciplinaria entre el Servicio de Urología, el Departamento de Bioquímica Clínica y el Servicio de Patología. Como el CaP tiene variabilidad racial, las Campañas arrojan datos que sirven como referencia de la población de la República Argentina respecto de las enfermedades prostáticas, tal como lo son ahora las detecciones registradas en otras partes del mundo, con orígenes étnicos y raciales distintos y con conductas alimentarias y estilos de vida diferentes a los de Argentina.

Por otra parte, en los últimos años se ha registrado un aumento considerable en la prevalencia de obesidad, considerándose en algunos países como una epi-

demia, especialmente en occidente. La obesidad, principalmente abdominal, comúnmente se asocia a distintas patologías crónicas entre las que se encuentran la enfermedad cardiovascular, el síndrome metabólico, la diabetes y también algunos tipos de cáncer de naturaleza hormono-dependiente. Específicamente en el CaP, la mayoría de los trabajos publicados describen una asociación entre el grado de obesidad y la progresión del tumor, no así con el desarrollo del mismo.

El papel de factores psicosociales en el desarrollo de patologías crónicas como la obesidad, el síndrome metabólico y el cáncer es controvertido (1). La evidencia actual indica que el estrés crónico tendría efectos sobre el desarrollo de obesidad abdominal y el síndrome metabólico, independientemente de la presencia de factores de riesgo tradicionales como tabaquismo, dieta inadecuada y sedentarismo. Esta asociación estaría mediada por la respuesta alterada al estrés crónico del eje Hipotálamo-Hipófiso-Adrenal (HHA), con una secreción elevada de cortisol, el cual actúa sobre receptores específicos del tejido adiposo, promoviendo el depósito de triglicéridos en el adipocito y también estimulando directamente la expresión del gen responsable de la síntesis de leptina e inhibiendo al gen responsable de la síntesis de adiponectina. Otras citoquinas pro-inflamatorias liberadas por el tejido adiposo (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) estimularían la liberación de hormona liberadora de corticotrofina (CRH) o de ACTH resultando en una mayor secreción de cortisol. De modo que estas citoquinas podrían ser el nexo entre estrés y adiposidad. A su vez, estados de depresión y ansiedad son inducidos o están asociados con elevados niveles de citoquinas (1). A pesar de la evidencia creciente del efecto del eje HHA sobre la adiposidad, el mecanismo biológico preciso y los biomarcadores involucrados aún no se conocen con certeza.

Varias líneas de evidencia sugieren que los factores psicológicos o del comportamiento pueden influenciar la progresión y el pronóstico en algunos tumores. Una hiperactividad del eje HHA y del sistema simpatoadrenal, debido al estrés y posible depresión, pueden influenciar la progresión del cáncer por estimulación del crecimiento tumoral o por inmunodepresión. Tanto el cortisol, que en estudios *in vitro* ha demostrado reducir la defensa celular contra tumores, como las citoquinas, intervendrían como mediadores biológicos entre el estrés y el cáncer (1). Sin embargo, no hay estudios específicos del efecto del estrés crónico sobre la prevalencia y severidad del CaP. Numerosos interrogantes aún no se han resuelto, entre ellos si el estrés crónico y la obesidad interactúan sinérgicamente en la predicción del desarrollo y la severidad del CaP.

Ya desde el año 2006, distintos miembros del Departamento de Bioquímica Clínica, estimulados por la creación de INFIBIOC, conformaron un grupo multidisciplinario que comenzó a evaluar la asociación entre

obesidad, insulino-resistencia y CaP. Los resultados han demostrado que el CaP se asocia con niveles bajos de colesterol-HDL y aumento de la relación triglicéridos/col-HDL (2), un índice interesante dado que se considera un marcador secundario de insulino resistencia. Por su parte, los ensayos preliminares confirmaron también en esta población una asociación directa de adiponectina con col-HDL e inversa con insulina. Asimismo, el grupo ha descrito un aumento del índice de andrógenos libres y de estrógenos en los pacientes con CaP, independientemente del grado de obesidad y han encontrado valores de PCR-*hs*, marcador de inflamación, cercanos a los valores de riesgo y descenso de adiponectina en estos pacientes. Estos resultados están relatados en un artículo recientemente publicado (3).

Durante el mes de mayo de 2009 se llevó a cabo la quinta Campaña de Detección Temprana del Cáncer de Próstata donde se evaluaron 2906 varones mayores de 50 años. Esta amplia población permitió obtener mayor cantidad de muestras de pacientes con CaP para profundizar los estudios que se vienen realizando desde hace ya 4 años, e incorporar el análisis acerca de la relación entre estrés crónico y desarrollo de obesidad y CaP. En este sentido, el grupo se ha contactado con el Dr. Yori Gidron, investigador en psiconeuroinmunología de la *Free University of Brussels*, Bélgica, quien forma parte de nuestro grupo de trabajo, a cargo de la evaluación e interpretación de los eventos estresores y su correlación con el CaP y la obesidad.

El grupo considera que los resultados de estos estudios podrán tener impacto en la salud de la población masculina mayor de 50 años, teniendo en cuenta la alta prevalencia, tanto de CaP como de obesidad abdominal y síndrome metabólico, en este grupo etario. Sobre la hipótesis de la existencia de una conexión endocrino-metabólica en el CaP y su asociación con el estrés crónico, y dada la alta frecuencia con que se presentan estas entidades, es importante poder evaluar y establecer factores de riesgo para el desarrollo y severidad del CaP. Los resultados obtenidos a partir de este proyecto justificarían el estudio más temprano de estos pacientes y permitirían desarrollar estrategias preventivas y/o terapéuticas para disminuir la incidencia de CaP, constituyendo de esta forma un aporte importante en el campo de la Salud Pública.

## Referencias bibliográficas

1. Gidron Y, Ronson A. Psychosocial factors, biological mediators, and cancer prognosis: a new look at an old story. *Curr Opin Oncol* 2008; 20 (4): 386-92.
2. Grosman H, Berg G, Mesch V, Scorticati C, López M, Fabre B, *et al.* Perfil lipídico, obesidad y cáncer de próstata.

*Rev Argent Urol* 2007; 72 (3): 127-33.

3. Grosman H, Fabre B, Mesch V, Lopez MA, Schreier L, Mazza O, *et al.* Lipoproteins, sex hormones and inflammatory markers in association with prostate cancer. *Aging Male* 2010;13 (2): 87-92.

## Por qué medir los ácidos grasos libres plasmáticos. Su participación en la resistencia a la insulina

Regina Wikinski<sup>1</sup>, Graciela Inés López<sup>2</sup>, Ana Inés González<sup>3</sup>

1. Dra. en Farmacia y Bioquímica
2. Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica, áreas Química Clínica y Gestión de Calidad y Auditoría
3. Dra. de la Universidad de Buenos Aires, Área Bioquímica Clínica

Lugar de Trabajo. Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica-INFIBIOC, Grupo de Lipoproteínas y Aterosclerosis. Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires

Autor responsable: Regina Wikinski, e-mail: [rwikinski@ffybu.uba.ar](mailto:rwikinski@ffybu.uba.ar)

DeFronzo define al conjunto de factores metabólicos y cardiovasculares que comprenden el Síndrome Metabólico, como síndrome de resistencia a la insulina. Se refiere así a una etiología patógena específica, más que a un conjunto difuso de factores, que pueden o no estar relacionados con la misma fisiopatología de base (1). La Resistencia a la insulina (RI) es un síndrome de enorme importancia, subyacente en los actuales desafíos a la salud de la población mundial que incluyen síndrome metabólico, diabetes tipo 2 y su mayor prevalencia en niños, hipertensión arterial, obesidad subcutánea y acumulación de grasa visceral, dislipemias con hipertrigliceridemia y colesterol-HDL bajo, enfermedades cardiovasculares y renales crónicas. También afecta a una importante proporción de mujeres postmenopáusicas.

Se define la RI como la falla en la respuesta de múltiples vías metabólicas insulino-dependientes en presencia de niveles normales o elevados de insulinemia. Los mecanismos moleculares de RI, subyacen en las alteraciones que aumentan el riesgo cardiovascular. Dichos mecanismos son varios y sus biomarcadores que buscan reemplazar al *clamp* euglicémico hiperinsuli-

némico de más difícil ejecución, reflejan esta multiplicidad: HOMA IR, se calcula a partir de niveles elevados de glucosa y/o insulina plasmáticas, ácidos grasos libres circulantes (FFA) aumentados señalan un proceso lipolítico que no está balanceado por su captación tisular, TG/ Colesterol-HDL depende menos de sus causas que de sus consecuencias, y disminución de adiponectina circulante, la cual todavía no tiene un punto de corte validado.

Desde 1963, el trabajo señero de Randle que fue la base de lo que se conoció en adelante como el ciclo "Glucosa-Ácidos grasos", puso de manifiesto la competencia entre las dos fuentes más importantes de energía, la glucosa y los FFA en su utilización por tejidos insulino dependientes (2). La captación de FFA por el músculo esquelético involucra su entrada a la mitocondria para su oxidación y producción de ATP, pero el exceso de ácidos grasos impide la entrada de glucosa al tejido y aumenta la gluconeogénesis hepática, generando hiperglucemia. FFA, en presencia de glucosa, estimulan la producción pancreática de insulina. Por otro lado, hiperglucemia e hiperinsulinemia inhiben la oxidación mitocondrial de FFA a través de la malonil-CoA que regula la carnitina palmitoil transferasa-1, un mecanismo descubierto en 1977 por McGarry y Foster que complementan y refuerzan los trabajos pioneros de Randle (3). Ese tema fue revisado varias veces y recientemente se ha demostrado que malonil-CoA-carnitina palmitoiltransferasa -1 modulan la oxidación de ácidos grasos de cadena larga *de novo* como oleato, convirtiéndose en un blanco para maniobras terapéuticas (4).

Todas las células presentan niveles bajos de receptores, pero las dependientes de insulina los tienen muy altos. El receptor de insulina es una proteína tetramérica que consiste en dos subunidades extracelulares y dos transmembrana, conectadas por puentes disulfuro. La unión de insulina a las unidades extracelulares induce cambios conformacionales en las subunidades transmembrana, afectando la vía de fosfoinositol-3-kinasa, que se propaga hasta disminuir la fosforilación del sustrato del receptor y otras proteínas de anclaje, implicando *downregulation* del gen del receptor (1)

El exceso de movilización de lípidos a las células de músculo esquelético, adipocitos y hepatocitos, que dependen de insulina para la captación de glucosa, afecta la fosforilación de proteinkinasa C epsilon (PKCε) y su

traslocación a la región nuclear, lo cual reduce la activación del promotor del receptor de insulina. En esta vía intervienen los ácidos grasos, regulando un grupo de proteínas muy activas en el proceso de traslocación (HMGAI) (5). En relación con RI, injuria endotelial e inflamación y aterogénesis, se destaca la vía de la proteinkinasa activada por mitógenos (MAPK) a través de su constituyente activo, la proteína p38 que, en asociación con palmitato, duplica la apoptosis en células endoteliales. El palmitato también reduce la actividad del inhibidor del factor nuclear kB no-dependiente de p38 (6).

En este laboratorio, FFA se miden habitualmente como parte de los estudios del metabolismo en diabetes, síndrome metabólico, enfermedad renal crónica, posmenopausia, esteatosis hepática y otros síndromes.

Por las razones expuestas, es importante incluir la medida de FFA en la lista de analitos del laboratorio clínico, ya que pueden ser marcadores de estados metabólicos anormales y forman parte del *cluster* de factores circulantes que permiten evaluar la fisiopatología de la RI además de los biomarcadores clásicos.

## Referencias bibliográficas

1. DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia* 2010; 53: 1270-87.
2. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. *Lancet* 1963; 785-9.
3. Frayn KN. The glucose-fatty acid cycle: a physiological perspective. *Bioch Soc Trans* 2003; 31: 1115-9.
4. Akkaoui MI, Cohen I, Esnous C, Lenoir V, Sournac, Girard J, *et al.* Modulation of the hepatic malonyl-CoA-carnitine-palmitoyltransferase 1A partnership creates a metabolic switch allowing oxidation of the novo fatty acids. *Biochem J* 2009; 420: 429-38.
5. Bhattacharya S, Dey D, Roy SS. Molecular mechanism of insulin resistance. *J Biosci* 2007; 32: 405-13.
6. Chai W, Liu Z. p38 mitogen activated protein kinase mediates palmitate induced apoptosis but not inhibitor of nuclear factor-kB degradation in human coronary artery endothelial cells. *Endocrinology* 2007; 148:1622-8.

# Evaluación del efecto protector renal y cardiovascular de Nebivolol y Atenolol en ratas *Zucker Diabetic Fatty*

Jorge Toblli<sup>1</sup>, Margarita Angerosa<sup>2</sup>

1. Doctor en Medicina. Facultad de Medicina. UBA. Director del Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán. Director de Proyectos Grupos Consolidados. UBACYT. UBA. Investigador Clínico. CONICET.
2. Doctora de la Universidad de Buenos Aires. Área Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Investigadora del Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán. Co Directora de Proyectos Grupos Consolidados. UBACYT. UBA. Investigadora del INFIBIOC

Lugar de Trabajo: INFIBIOC, Depto. de Bioquímica Clínica del Hospital de Clínicas (UBA) y Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán. Hospital Asociado a la Facultad de Medicina (UBA).  
E-mail: margaangerosa@hotmail.com

En la actualidad la asociación de obesidad, diabetes *Mellitus* no insulino dependiente (NIDDM) e hipertensión arterial es altamente prevalente afectando a una gran parte de la población mundial. Estas morbilidades, cuando están juntas constituyen el denominado Síndrome Metabólico (MS), que está asociado estrechamente al desarrollo de enfermedad cardiovascular y renal con consecuencias deletéreas (1-5).

La activación del sistema nervioso simpático (SNS) es de suma importancia no sólo en la regulación hemodinámica cardio-renal sino también en la actividad metabólica. Por lo tanto, la actividad simpática alterada jugaría un rol en la etiología y/o complicaciones del MS.

Todavía no se ha resuelto si las alteraciones del SNS contribuyen al MS, o más aún, si son una consecuencia de ello. La posibilidad de que un incremento primario en el tono simpático pueda contribuir al desarrollo de obesidad y MS, está apoyada por estudios longitudinales en varones japoneses. Masuo, *et al.* (6) informaron que valores elevados de norepinefrina en el plasma a nivel basal predecían futuras lecturas de presión sanguínea elevada, ganancia de peso y valores de insulina más altos en los 5 años siguientes de seguimiento. Varios componentes del MS pueden incrementarse debido a la actividad simpática. La hiperinsulinemia, marcador de una sensibilidad reducida a la insulina, puede directamente estimular a la actividad del SNS en los seres humanos (7). Algunos

productos del tejido adiposo tales como la leptina y los ácidos grasos no esterificados (NEFAs), pueden también contribuir a la activación neurogénica y a la resistencia de insulina en personas con obesidad abdominal (8) (9).

Los antagonistas de receptor beta-adrenérgico, beta-bloqueantes (BB), son efectivos para el tratamiento de la hipertensión arterial, no obstante estos agentes son utilizados con cierto cuidado en pacientes diabéticos debido a los posibles efectos adversos sobre el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos, como resistencia a insulina, intolerancia a la glucosa y dislipidemia. Los BB tradicionales, tanto selectivos como no selectivos, son verdaderamente vasoconstrictores debido a la actividad alfa-1 no bloqueada; sin embargo, los nuevos BB, denominados de tercera generación los cuales presentan actividad vasodilatadora, como el Nebivolol (N), no están asociados con estos efectos metabólicos negativos. Actualmente se evidencia cierta tendencia en la práctica clínica para utilizar BB vasodilatadores en el tratamiento de la hipertensión arterial con el propósito de reducir el riesgo renal y cardiovascular especialmente en la población de pacientes con DM.

La rata *Zucker Diabetic Fatty* (ZDF) es un modelo ampliamente reconocido de obesidad, NIDDM, hipertensión arterial e hiperlipidemia (10-12). Consecuentemente, es un atractivo modelo experimental para investigar el potencial daño renal y cardíaco relacionado con el "Síndrome Metabólico". Al respecto, el objetivo de nuestro proyecto es determinar en un estudio a largo plazo, si Nebivolol (N), es más efectivo que Atenolol (AT), clásico y ampliamente utilizado BB en controlar el deterioro funcional como morfológico a nivel renal y cardiovascular en este modelo de rata representativo del síndrome metabólico humano.

## Referencias bibliográficas

1. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004; 33: 351-75.
2. Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistant syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004; 33: 283-303.
3. He J, Ogden LG, Bazzano LA, Vupputuri S, Loria C, Whelton PK. Risk factors for congestive heart failure in US men and women: NHANES I epidemiologic follow-up study. *Arch Intern Med* 2001; 161: 996-1002.
4. Fox CS, Larson MG, Leip EP, Meigs JB, Wilson PW, Levy D. Glycemic status and development of kidney disease: the Framingham Heart Study. *Diabetes Care* 2005; 28(10): 2436-2440.
5. Malik S, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR, *et al.* Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease and all cause in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245-50.

6. Masuo K, Kawaguchi H, Mikami H, Ogihara T, Tuck ML. Serum uric acid and plasma norepinephrine concentrations predict subsequent weight gain and blood pressure elevation. *Hypertension* 2003; 42: 474-80.
7. Berne C, Fagius J, Pollare T, Hjemdahl P. The sympathetic response to euglycaemic hyperinsulinaemia: evidence from microelectrode nerve recordings in healthy subjects. *Diabetologia* 1992; 35: 873-9.
8. Eikelis N, Schlaich M, Aggarwal A, Kaye D, Esler M. Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system. *Hypertension* 2003; 41: 1072-9.
9. Benthem L, Kuipers F, Steffens AB, Scheurink AJW. Excessive portal venous supply of long-chain free fatty acids to the liver, leading to hypothalamus-pituitary-adrenalaxis and sympathetic activation as a key to the development of Syndrome X. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 892: 308-11.
10. Bray GA. The Zucker-fatty rat: A review. *Fed Proc* 1977; 36: 148-53.
11. Kava R, Greenwood MR, Johnson PR. Zucker (fa/fa) rats. *ILAR News* 1990; 32: 4-8.
12. Kurtz TW, Morris RC, Pershadsingh HA. The Zucker fatty rat as a genetic model of obesity and hypertension. *Hypertension* 1989; 13: 896-901.

## La exposición a xenobióticos y la inducción de modificaciones en el material genético

Marta Ana Carballo<sup>1</sup>,  
Marcela Mabel López Nigro<sup>1</sup>

1. Dra de la Universidad de Buenos Aires

Lugar de trabajo: CIGETOX (Citogenética Humana y Genética Toxicológica) – INFIBIOQ. Departamento de Bioquímica Clínica - Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad de Buenos Aires Junín 956. 1113. CABA. Buenos Aires. Argentina.  
E-mail: macarballo@ffybio.uba.ar

Dado que la Salud se manifiesta como una relación armónica entre el hombre y su ambiente, se debe focalizar la atención sobre tres objetivos indiscutibles: fomentar y mantener la salud del individuo, conservar el ambiente en equilibrio y atacar debidamente toda posible enfermedad. En este último caso es necesario utilizar los medios y métodos de diagnóstico disponibles y crear los ne-

cesarios para lograr la prevención de la enfermedad o un diagnóstico temprano que permita reducir las fuentes de exposición generadoras de los desequilibrios referidos como pérdida de salud, sea individual o ambiental (1).

La Genética Toxicológica se ocupa del estudio del efecto mutagénico de los agentes químicos, físicos y/o biológicos, así como de las consecuencias que provocan la exposición a los mismos sobre los ecosistemas, el ambiente, los seres vivos y la salud humana. Por lo tanto, son objetivos fundamentales de la Genética Toxicológica la implementación de métodos para el ensayo y evaluación del riesgo y la elucidación de la relación entre genotoxicidad e iniciación del proceso neoplásico (carcinogénesis) (2).

El mayor desafío de esta área de la ciencia es identificar las causas de enfermedades genéticas humanas, iniciadas tanto en células germinales como somáticas, y sugerir el modo de disminuir su incidencia, así como proveer la información precisa sobre exposición y asesoramiento de riesgo para una efectiva protección de la salud. Para ello, se debe identificar y estimar el impacto relativo de los agentes ambientales que inducen el posible daño genético. Esta presunción está basada en la necesidad de considerar que los agentes tóxicos ambientales causan una significativa proporción de enfermedades genéticas que afectan a los seres vivos y en particular al hombre (3).

El uso de una batería de ensayos donde se combinen metodologías citogenéticas, citológicas y moleculares, se orienta a la caracterización más estricta del daño inducido, su progresión y su posible relación con procesos oncogénicos. Al mismo tiempo es fundamental establecer si alguno de los elementos que forman parte de nuestra cotidianidad, se constituyen en agentes que resguarden el patrimonio genético de los individuos por actuar como inductores de reparación o por incrementar el sistema de defensa antioxidante (4).

Teniendo en cuenta los antecedentes previamente mencionados, el CIGETOX (Citogenética Humana y Genética Toxicológica) se encuentra abocado a la búsqueda y utilización de distintas herramientas para la caracterización del daño genético en poblaciones expuestas (contaminantes ambientales y plaguicidas), para detectar una metodología que permita caracterizar la susceptibilidad individual frente a terapias medicamentosas (farmacogenética), así como en el estudio de recursos naturales de la flora que puedan ser utilizados para prevención de procesos oxidativos y/o neoplásicos (antimutagénesis).

Los estudios de monitoreo de poblaciones utilizando los biomarcadores apropiados proveen de herramientas para un mejor entendimiento del riesgo potencial para la salud producto de la exposición a sustancias tóxicas presentes en el ambiente (agua, aire y suelo).

En Argentina, los plaguicidas se han convertido en imprescindibles en agricultura intensiva para mejorar la producción, proteger los cultivos almacenados y controlar los vectores de enfermedades. Aunque el uso de

plaguicidas es necesario, resulta fundamental evaluar los riesgos para la salud en los seres humanos que están profesional y/o ambientalmente expuestos a estos agroquímicos. Esta exposición puede ocurrir durante la preparación de la mezcla, en el procesamiento de carga y/o lavado de los equipos de fumigación y en el momento de su aplicación. La exposición crónica a los plaguicidas se encuentra asociada a daños en la salud que incluyen neurotoxicidad, efectos carcinogénicos e inmunológicos, alteraciones de la reproducción y el desarrollo. Por lo tanto, la caracterización de estos posibles efectos en poblaciones expuestas de Argentina resulta imprescindible.

Se debe recordar que la toxicidad de muchos xenobióticos puede estar influenciada directa o indirectamente por ciertos mecanismos de defensa, constitutivos o genéticamente inducibles, presentes en las células. Además del ya conocido mecanismo de detoxificación del citocromo P450, los transportadores de membrana celular presentan un especial interés, ya que están involucrados en este proceso mediante la absorción y excreción de xenobióticos. Dentro de los transportadores se puede citar la glicoproteína P (P-gp), miembro de la superfamilia de proteínas transportadoras de membrana ATP-dependientes (5). Si se generan modificaciones en la expresión de esta glicoproteína por exposición a distintos xenobióticos, ya sea con un aumento o una disminución, esto permitiría confirmar la hipótesis que sostiene que la P-gp sería la primera línea de defensa contra productos naturales y contaminantes antropogénicos.

Por otra parte, la evaluación riesgo-beneficio de grupos de plantas medicinales de la flora argentina de uso popular, de las cuales existe un conocimiento cabal sobre sus características botánicas, pero se desconocen sus propiedades tóxicas y/o beneficiosas, podrá dar como resultado diversas premisas. De este modo se podrá contar con referencias que avalen la escasa o nula toxicidad de estas plantas, como así también permitirán el mayor aprovechamiento de estos recursos naturales renovables. Además, los mismos conceptos se pueden aplicar a vegetales integrantes de nuestra dieta que carecen de gran consumo en nuestro medio pero se encuentran incorporados a la dieta mediterránea debido a sus propiedades benéficas.

Las evaluaciones toxicogenéticas permiten poner en evidencia daños en el momento de la exposición y visualizar posibles daños a futuro, así como tomar medidas preventivas e informar con respecto al riesgo de estar en contacto con ciertos agentes que pueden ser adversos para la salud.

## Referencias bibliográficas

1. Carballo MA, López Nigro MM. Ambiente y salud: tóxicos ambientales. En: Mudry, M. y Carballo M.A., editores. Genética Toxicológica. Buenos Aires: de Los Cuatro Vientos 2006. p. 495-520.

2. Preston RJ, Hoffmann GR. Genetic Toxicology. En: Klaassen CD editor. Toxicology The basic science of Poisons 6ª Ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 321-50.
3. Waters MD, Selkirk JK, Olden K. The impact of new technologies on human population studies. *Mutat Res* 2003; 544 (2-3): 349-60.
4. Tucker JD, Preston RJ. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges and cancer risk assessment. *Mutat Res* 1996; 365:147-59.
5. Colombo A, Bonfanti P, Orsi F, Camatini M. Differential modulation of cytochrome P-450 1A and P-glycoprotein expression by aryl hydrocarbon receptor agonists and thyroid hormone in *Xenopus laevis* liver and intestine. *Aquatic Toxicol* 2003; 63: 173-86.

## GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

### Emergencia de nuevos patógenos con dificultades diagnósticas y terapéuticas

Carlos Alberto Vay<sup>1</sup>, Marisa Nancy Almuzara<sup>2</sup>, Claudia Miriam Barberis<sup>3</sup>

1. Dr. de la Universidad de Buenos Aires
2. Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica, Area Bacteriología Clínica, Tesista de Doctorado
3. Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica, Area Bacteriología Clínica, Tesista de Doctorado

Lugar de Trabajo: INFIBIOC, UBA y Departamento de Bioquímica Clínica, Universidad de Buenos Aires.

Dirección Postal: Avda Córdoba 2351 1 Piso Sector C CP (1120)  
Dirección electrónica: cavay@ffy.uba.ar

Las técnicas moleculares aplicadas a la microbiología clínica han permitido el descubrimiento de nuevos patógenos. Algunos de ellos forman parte de la microbiota ambiental o de los sitios no estériles del cuerpo humano y a partir de allí pueden invadir tejidos estériles produciendo enfermedad infecciosa. Este comportamiento oportunista no siempre es documentado por los laboratorios clínicos debido a la conjunción de varios factores negativos: el des-

conocimiento por parte del microbiólogo de la existencia de los mismos, la desjerarquización clínico-microbiológica del hallazgo y la superposición de características fenotípicas que solapan la correcta identificación

Entonces, la verdadera incidencia en la infección humana de estos agentes es desconocida actualmente. Sólo algunas publicaciones recientes mencionan y alertan sobre la participación de estos nuevos patógenos en la enfermedad infecciosa del hombre (1-3).

Bacilos no fermentadores pertenecientes a la misma familia *Alcaligenaceae* (*Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Advenella*, *Kerstersia* y *Oligella*) y *Flavobacteriaceae* (*Elizabethkingia* y *Chryseobacterium* entre otros) representan un desafío diagnóstico y aún es poco conocida la enfermedad infecciosa que ellos ocasionan, incluyendo la participación en la colonización e infección respiratoria del paciente con enfermedad fibroquística (4)(5). No obstante, el número de publicaciones que relacionan a las acromobacterias, *Chryseobacterium* y *Elizabethkingia* con el paciente infectado ha aumentado considerablemente en los últimos años (2)(6-8).

Estudios de sensibilidad a los antimicrobianos sobre estos microorganismos han sido también publicados, pero en la mayoría de ellos se utilizaron métodos de dilución. Poco se conoce acerca de la utilidad de los métodos de difusión, que son más sencillos de aplicar y están al alcance de todos los laboratorios clínicos. Actualmente, el CLSI no ha brindado lineamientos para determinar las pruebas de sensibilidad por el método de difusión para bacilos no fermentadores pertenecientes a las familias *Alcaligenaceae* y *Flavobacteriaceae* y de los géneros que integran los bacilos positivos difteroides (9)(10). Este grupo ha estudiado la correlación entre el método de difusión y el de dilución en especies pertenecientes a diferentes clones del género *Achromobacter*. Los resultados obtenidos permitieron establecer puntos de corte para la prueba de sensibilidad por discos para los antimicrobianos imipenem, meropenem, ertapenem, gentamicina, trimetoprima-sulfametoxazol, doxiciclina y tetraciclina. Este es el primer estudio que demuestra que la prueba de sensibilidad por difusión es aplicable a aislamientos clínicos de *Achromobacter* spp. (11).

Los mecanismos de resistencia adquirida a los carbapenemes han sido ampliamente estudiados en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp, pero son escasas las publicaciones referidas a la resistencia adquirida en otros bacilos no fermentadores, como *Pseudomonas putida* (12)(13). Esta especie emerge en Argentina con resistencia adquirida a ambos carbapenemes: imipenem y meropenem (14). El primer aislamiento fue estudiado en este laboratorio y correspondió a *Pseudomonas putida* portadora de una metalo-beta-lactamasa de tipo VIM-2 (15).

Entre los aislamientos de *Pseudomonas putida* resistentes a ambos carbapenemes debido a la portación de carbapenemasa de tipo VIM-2, se encontró uno cuyas características fenotípicas eran similares a esta especie, pero al-

gunas de ellas eran aberrantes. Entre las diferencias se destacaba la producción de un pigmento amarillo. La secuenciación del ARN ribosomal 16 s determinó que el microorganismo presentaba más del 99% de homología con aislados de *Pseudomonas putida* y de *Pseudomonas fulva*. La hibridación del ADN dilucidó que este aislamiento correspondía a *Pseudomonas fulva*. Este microorganismo fue hallado en el cultivo del LCR de una niña con tumor del SNC y ocasionó una meningitis fatal pos neuroquirúrgica. Es la primera vez que se documenta que esta bacteria ambiental causa infección en el hombre (16).

También se hallaron algunos aislamientos de *Pseudomonas putida* resistentes a meropenem y sensibles a imipenem. Esta disociación, no estudiada por otros investigadores, fue analizada por este grupo de trabajo. El mecanismo que confiere esta resistencia no es debido a una carbapenemasa, sino a la sobre expresión de una bomba de eflujo de tipo *Arp B*, que afecta a selectivamente al meropenem (17)(18).

El laboratorio clínico debe estar alerta respecto de las enfermedades infecciosas que son endémicas en otras áreas geográficas y que pueden ser importadas a través de los viajes que realiza la población. En febrero de 2009, un paciente de sexo masculino de 17 años, oriundo de la República Dominicana, fue derivado al Hospital de Clínicas de la Universidad de Buenos Aires para estadificación y evaluación del tratamiento más apropiado de su linfoma de Hodgkin. En el momento de su ingreso el paciente presentaba tumoraciones blandas con supuración espontánea y fiebre intermitente. De las supuraciones se aisló *Burkholderia pseudomallei*, agente etiológico de la melioidosis, enfermedad que aún no había sido documentada en Argentina. En razón de la baja incidencia de *Burkholderia pseudomallei* en este continente y de la similitud fenotípica de esta especie con otras especies ambientales de *Pseudomonas* o de *Burkholderia*, que suelen interpretarse como contaminantes; el diagnóstico de esta enfermedad pudo haber sido subestimado (19).

Con respecto a los bacilos grampositivos difteroides su diversidad actual y el lento desarrollo de algunas especies han complicado notablemente la identificación práctica en el laboratorio a través del fenotipo. Además de involucrarse en la infección nosocomial, recientemente se han descrito brotes de *Corynebacterium striatum* en las unidades de cuidados intensivos en Italia, Holanda y Argentina (20)(21-23).

*Mycobacterium fortuitum*, *M. chelonae* y *M. abscessus*, son las micobacterias de crecimiento rápido de mayor importancia clínica. Estos bacilos grampositivos crecen sin mayor dificultad en medios de cultivo universales que utilizan en la rutina los laboratorios clínicos. Este hecho implica que puedan confundirse con especies de corinebacterias y su hallazgo desestimado por ser considerado una mera contaminación. Las infecciones cutáneas producidas por estas especies de *Mycobacterium* son hoy en día cada vez más frecuentes y a menudo evolucionan a abscesos subcutáneos

que drenan espontáneamente (24). Estas infecciones se han incrementado con las nuevas modas de embellecimiento, tales como la mesoterapia, el rejuvenecimiento de los tejidos por la aplicación de toxina botulínica y la colocación de implantes mamarios (25). La identificación de estas micobacterias es particularmente importante para el pronóstico de la enfermedad, pues fracasa el tratamiento tradicional antituberculoso y el tratamiento antibiótico adecuado está en relación a la micobacteria de rápido crecimiento aislada y a su perfil de resistencia impredecible (24) (25). En Buenos Aires se ha descrito por primera vez en el mundo, un importante brote relacionado a la mesoterapia, producido por una especie sumamente infrecuente de micobacteria de rápido desarrollo, multirresistente, *Mycobacterium immunogenum* (26).

La correlación del hallazgo de nuevos microorganismos con los aspectos clínicos-epidemiológicos de cada paciente ermitirá develar el papel de estas nuevas bacterias en la enfermedad infecciosa y establecer si existe relación entre especie-sitio de infección, especie-enfermedad de base, el tipo de inmunidad afectada, los factores de riesgo y las probables fuentes de infección, establecer el tratamiento adecuado sobre la base del conocimiento previo de su perfil o mecanismos de resistencia a los antibacterianos y en algunos casos conocer el pronóstico de la enfermedad.

## Referencias bibliográficas

- Mahlen SD, Clarridge JE. 3rd. Site and clinical significance of *Alloscardovia omnicoles* and *Bifidobacterium* species isolated in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 2009; 47(10): 3289-93.
- Ahmed MS, Nistal C, Jayan R, Kuduvali M, Anijeet HK. *Achromobacter xylosoxidans*, an emerging pathogen in catheter-related infection in dialysis population causing prosthetic valve endocarditis: a case report and review of literature. *Clin Nephrol* 2009; 71 (3): 350-4.
- Reichenbach J, Lopatin U, Mahlaoui N, Beovic B, Siler U, Zbinden R, et al. *Actinomyces* in chronic granulomatous disease: an emerging and unanticipated pathogen. *Clin Infect Dis* 2009; 49 (11): 1703-10.
- John J. LiPuma. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 299-323.
- Raso T, Bianco O, Grosso B, Zucca M, Savoia D. *Achromobacter xylosoxidans* respiratory tract infections in cystic fibrosis patients. *APMIS* 2008; 116 (9): 837-41.
- Weaver KN, Jones RC, Albright R, Thomas Y, Zambrano CH, Costello M, et al. Acute emergence of *Elizabethkingia meningoseptica* infection among mechanically ventilated patients in a long-term acute care facility. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31 (1): 54-8.
- Lambiase A, Del Pezzo M, Raia V, Sepe A, Ferri P, Rossano F. *Chryseobacterium* respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis. *J Infect* 2007; 55 (6): 518-23.
- Lin PY, Chu C, Su LH, Huang CT, Chang WY, Chiu CH. Clinical and microbiological analysis of bloodstream infections caused by *Chryseobacterium meningosepticum* in neonatal patients. *J Clin Microbiol* 2004; 42 (7): 3353-5.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI document M100-S20. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; proposer guidelines. CLSI document M45-P. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Almuzara M, Limansky A, Ballerini V, Galanternik L, Famiglietti A, Vay C. *In vitro* susceptibility of *Achromobacter* spp. isolates: comparison of disk diffusion, Etest and agar dilution methods. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35: 68-71.
- Kumita W, Saito R, Sato K, Ode T, Moriya K, Koike K, et al. Molecular characterizations of carbapenem and ciprofloxacin resistance in clinical isolates of *Pseudomonas putida*. *J Infect Chemother* 2009; 15: 6-12.
- Horii T, Muramatsu H, Linuma Y. Mechanism of resistance to fluorquinolones and carbapenemes in *Pseudomonas putida*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 643-7.
- Pasteran F, Faccone D, Guerreiro L, Limansky A, Rapoport M, Red WHONET Argentina, et al. Emergencia de múltiples clones de *Pseudomonas putida* productora de metalo- $\beta$ -lactamasas en Argentina. XIII Jornadas Argentinas de Microbiología, 9, 10 y 11 de octubre de 2008, Rosario, Santa Fe, Argentina.
- Almuzara M, Radice M, De Gárate N, Kossman A, Cuirolo A, Santella G, et al. First VIM-2 producing *P. putida* isolated in Buenos Aires. *Emerg Infect Dis* 2007; 4: 668-9.
- Almuzara MN, Vazquez M, Tanaka N, Turco M, Ramirez MS, Lopez EL, et al. First case of human infection due to *Pseudomonas fulva*, an environmental bacterium isolated from cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 660-4.
- Papalia M, Almuzara M, Santella G, Famiglietti A, Gutkind G, Vay C, et al. Análisis de los mecanismos responsables de la resistencia disociada a carbapenemes en *Pseudomonas putida*. X Congreso Argentino SADI, Mar del Plata, 15 de mayo de 2010.
- Bertona E, del Castillo M, Cittadini R, Almuzara M, Barsanti A, Vay C. Infección de la vía biliar por *Pseudomonas putida* resistente a meropenem. V Congreso Argentino SADI, Mar del Plata, 6 al 8 de mayo de 2005.
- Almuzara M, Barberis C, Bravo M, Pisarevsky A, Petrucci E, Famiglietti A, et al. Un caso de melioidosis en Argentina. *Medicina* 2010. (En prensa).
- Iaria C, Stassi G, Costa GB, Biondo C, Gerace E, Noto A, Spinella SG, David A, Cascio A. Outbreak of multi-resistant *Corynebacterium striatum* infection in an Italian general intensive care unit. *Hosp Infect.* 2007; 67 (1):102-4.
- Brandenburg AH, van Belkum A, van Pelt C, Bruining HA, Mouton JW, Verbrugh HA. Patient-to-patient spread of a single strain of *Corynebacterium striatum* causing infections in a surgical intensive care unit. *J Clin Microbiol* 1996 ; 34 (9): 2089-94.
- Comunicar la aparición de *Corynebacterium striatum* en nuestra Unidad de Terapia Intensiva. Chamud M, Castro P, Rivas J, Cataldi N, Pedernera A, Tuduri A, et al. *Medicina Intensiva* 2008; 25 Supl4: 53-4.



23. Vay C, Almuzara M, Barberis C. 2010. Comunicación personal.
24. Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15 (4): 716-46.
25. Esteban J, Fernández Roblas R, Soriano F. Rapidly growing mycobacteria in human pathology. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18 (6): 279-86.
26. Del-Castillo M, Palmero D, Lopez B, Paul R, Ritacco V, Bonvehi P, *et al.* Mesotherapy-associated outbreak caused by *Mycobacterium immunogenum*. *Emerg Infect Dis* 2009; 15 (2): 357.

## GASTROENTEROLOGÍA Y ENZIMOLOGÍA CLÍNICA

### Estudio de la interacción Mieloperoxidasa-Ceruloplasmina en enfermedades inflamatorias. De la fisiopatología a la bioquímica clínica

Gustavo Alberto Negri<sup>1</sup>, María Beatriz Di Carlo<sup>2</sup>, Viviana Mónica Yapur<sup>3</sup>, María Fernanda Bustos<sup>3</sup>, Fabiana Lopez Mingorance<sup>3</sup>

1. Director-Doctor en Bioquímica.
2. Codirector-Doctora de la Universidad de Buenos Aires.
3. Integrante-Bioquímica.
4. Integrante-Bioquímica.
5. Integrante-Bioquímica.

Lugar de Trabajo: Área Gastroenterología y Enzimología Clínica - Dpto. Bioquímica Clínica - Facultad de Farmacia y Bioquímica – INFIBIOQ. Dirección Postal: Dpto. Bioquímica Clínica - Hospital de Clínicas - Sector A- Córdoba 2153 – CABA (1113) – Argentina. E-mail: ganegri@ffyb.uba.ar; dicarlo@ffyb.uba.ar

El proceso inflamatorio consiste en una serie de eventos característicos, en los que se produce la activación de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), macrófagos y linfocitos, liberando enzimas lisosomales, radicales libres del oxígeno, sustancias vasoactivas y mediadores proinflamatorios. Dentro de este contexto se estudia principalmente, la interacción entre la mieloperoxidasa, constituyente enzimático mayoritario de los PMN y su inhibidor natural la ceruloplasmina, reactante de fase aguda (1).

La Mieloperoxidasa (MPO, peróxido de hidrógeno óxidoreductasa – EC 1.11.1.7), es una hemoenzima glucosilada que se encuentra principalmente en los gránulos azurófilos de los neutrófilos, monocitos y macrófagos (2).

Es constituyente del sistema inmune innato e interviene en la producción de oxidantes potentes al amplificar el potencial oxidativo del agua oxigenada; y presenta una actividad antimicrobiana (bactericida y viricida) al generar especies cloradas. La acción catalítica la lleva a cabo a través del sistema MPO, mecanismo en el que se encuentran involucradas las diferentes formas de la enzima. Interviene en la conversión de: su sustrato natural (el peróxido de hidrógeno) a agua, en presencia de iones cloruros (principalmente). Como producto final de importancia biológica se obtiene el ácido hipocloroso, conocido como el microbicida más importante obtenido por el organismo, interviniendo en la fagocitosis de agentes agresores. La desregulación de este mecanismo conlleva a la perpetuación del daño y su implicancia en la injuria endotelial. Participa en el inicio y el desarrollo del proceso arteriosclerótico. Esta enzima es capaz de generar oxidantes y radicales difusibles mediante la peroxidación lipídica y la modificación de proteínas estructurales (3-5).

Los posibles mecanismos en los que participa la MPO a nivel endotelial son: oxidación de la LDL; modificación de la Apo A1 y formación de la HDL disfuncional y promoción de la disfunción endotelial (6).

Las evidencias en animales de experimentación dan cuenta de que la MPO junto a los productos de la oxidación forma parte de lesiones ateroscleróticas características. En seres humanos, aumentos en los niveles sistémicos de MPO se correlacionan con riesgo cardiovascular y presencia de lesión aterosclerótica, demostrada en estudios de diagnóstico por imágenes (angiografía). Por el contrario en individuos genéticamente deficientes en MPO o con polimorfismos genéticos que conllevan a la reducción en la expresión de MPO, se observa menor prevalencia de enfermedad cardiovascular (7).

Es así como, más recientemente a la MPO se la reconoce como marcador de: Inflamación, Estrés oxidativo, Estrés nitrosativo y Aterogénesis.

En cuanto a las enzimas relacionadas con la MPO, se destacan a:

-*Ceruloplasmina*, en su unión a esta oxidasa se ha observado regulación de la actividad extracelular de ambas.

-*NADPH oxidasa* a través de la producción de especies reactivas oxígeno,

-*Superóxido dismutasa* y *Catalasa*, producción y depuración del peróxido de hidrógeno,

- la *iNOS* por la formación de compuestos reactivos del nitrógeno con la consecuente nitración de proteínas, incluida la MPO,

- *proteasas* como la Elastasa-PMN, la que en presencia del sistema MPO aumenta su acción proteolítica. En este sen-

tido se ha demostrado *in vitro* que se produce el desbalance del sistema proteasa-antiproteasa, cuando en el medio está presente el sistema MPO, por oxidación de la antiproteasa (Alfalantitripsina). Hemos demostrado *in vivo* tanto en suero y tejidos de animales de experimentación con pancreatitis aguda, como en el suero de pacientes sépticos y en las heces de pacientes con colitis ulcerosa, a través de este fundamento la relación directa entre el aumento de la actividad proteolítica y la mayor actividad de elastasa-PMN con la severidad de la enfermedad, considerando al desbalance proteasa antiproteasa como un factor etiológico más del proceso inflamatorio.

- *Metaloproteasas* junto a ellas y otras moléculas interviene en la desestabilización de la placa ateromatosa.

Los mecanismos aterogénicos en los que la MPO está involucrada se deben a la utilización del Cl- y generación de oxidantes activadores de la cascada de proteasas, y óxido nítrico ateroprotector con la formación de oxidantes derivados (8-10).

Con respecto a la Ceruloplasmina (Cp, ferroxidasa-I, EC 1.16.3.1.), su interés ha crecido en los últimos años debido a los avances en el conocimiento de su estructura y función. Es una abundante proteína plasmática azul que transporta aproximadamente el 95% de cobre circulante en el adulto normal. Fue purificada de la fracción alfa-2 globulinas séricas, y es considerada una proteína de fase aguda. Aunque es sintetizada principalmente en el hígado otros tipos de células expresan la proteína (monocitos, astrocitos, células de Sertoli). En ciertas condiciones fisiopatológicas puede iniciarse su expresión en tejido vascular. Interviene en la defensa contra el estrés oxidativo, inactivación de aminas biogénicas, angiogénesis, modulación de la coagulación, transporte de cobre y metabolismo del hierro. Es una multicobre oxidasa con propiedades antioxidantes (actividad ferroxidasa). Sin embargo, se ha informado también que tiene actividad prooxidante. Las múltiples funciones de la Cp no están de acuerdo con el paradigma (un gen, una proteína, una función). Es considerada una *moonlighting protein*, proteína multifuncional, que cambia su función en respuesta a modificaciones del sustrato, a la localización diferencial o expresión diferencial (11-13).

La determinación de Cp en el laboratorio bioquímico clínico se relaciona tradicionalmente con el diagnóstico de la Enfermedad de Wilson y es solicitada por el hepatólogo para descartar dicho trastorno ante enfermedad hepática de origen desconocido, por el neurólogo ante ciertos síntomas neuropsiquiátricos o por el oftalmólogo ante la observación del anillo de Kayser Fleisher (14-15).

Múltiples estudios epidemiológicos demuestran que concentraciones de Cp plasmática aumentadas están asociadas con la enfermedad cardiovascular, dada la capacidad de la Cp, a través del cobre, de promover efectos vasculopáticos. Estos efectos son mediados por formación incrementada de especies reactivas del oxígeno. Hay también evidencia que factores de riesgo para enfermedad

cardiovascular (diabetes e hiperhomocisteinemia) pueden aumentar el impacto vasculopático de la Cp (16). La hiperglucemia es considerada la causa primaria de las complicaciones vasculares en la diabetes, y está asociada con el estrés oxidativo, el aumento de los elementos traza, el metabolismo lipídico y alteraciones en las actividades de las enzimas pancreáticas (17-18).

En el plasma interactúa con la MPO para inhibir su actividad peroxidasa e impedir la formación de especies cloradas. Estudios *in vitro* sobre las propiedades enzimáticas muestran que la Cp puede comportarse como un inhibidor competitivo impidiendo la unión de sustratos aromáticos al sitio activo de la MPO. Estas evidencias sugieren la presencia de un complejo Cp-MPO que puede estar presente en sueros provenientes de pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas como la enfermedad cardiovascular y la aterosclerosis (19) (20).

## Referencias bibliográficas

1. Proteasa G, Tahboub YR, Galijasevic S, Raushel FM, Abu-Soud HM. Kinetic evidence supports the existence of two halide binding sites that have a distinct impact on the heme iron microenvironment in myeloperoxidase. *Biochem* 2007; 46: 398-405
2. Furtmuller PG, Zederbauer M, Jantschko W, Hem J, Bogner M, Jakopitsch C, *et al.* Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases. *Arch Biochem & Biophysics* 2006; 445: 199-213.
3. Nauseef WM. Contribution Myeloperoxidase to proinflammatory events: more than an antimicrobial system. *Int J Hematol* 2001; 74: 125-33.
4. Malle E, Marsche G, Panzenboeck, Sattler W. Myeloperoxidase-mediated oxidation of high-density lipoprotein fingerprints of newly recognized potential proatherogenic lipoproteins. *Arch Biochem & Biophys*; 2006; 445: 245-55.
5. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and Cardiovascular disease. *Arterioscler ThrombVasc Biol* 2005; 25: 1102-11.
6. Podrez EA, Abu-Saud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radical Biol & Med* 2000;28 (12): 1717-25.
7. Mocata TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilrohan R, Frampton CM, Ruhands AM, *et al.* Plasma concentration of Myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49 (20): 1993-2000.
8. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77: 1-28.
9. Apple FS, Wu AHB, Maier J, Ravkilde J, Panteghini M, *et al.* Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2005; 51 (5): 810-24.
10. Heinecke JW. Oxidative stress: New approaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis. *Am J Cardio* 2003; 9 (Suppl): 12A-16A.

11. Yapur VM, Bustos MF, Gonzalez AS, Negri GA. Ceruloplasmina: Determinación de su actividad ferroxidasa. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2007; 41 (3): 347-51.
12. Bielli P, Calabrese L. Structure to function relationships in ceruloplasmin: a 'moonlighting' protein. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1413-27.
13. Hellman N, Gitlin J. Ceruloplasmin metabolism and function. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 439-58.
14. Nakamura K, Go N. Function and molecular evolution of multicopper blue Proteins. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62 (18): 2050-66.
15. Musci G, Bilenchi GC, Calabrese L. The multifunctional oxidase activity of ceruloplasmin as revealed by anion binding studies. *Eur J Biochem* 1999; 265: 589-97.
16. Jeffery CJ. Moonlighting proteins. *Trends Biochem Sci* 1999; 24 (1): 8-11.
17. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovascular disease - *Free Rad Biol & Med* 2000; 28 (12): 1735-44.
18. Fox PL, Mukhopadhyay Ch, Ehrenwald E Structure, oxidant activity, and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin. *Life Sci* 1995, 56 (21): 1749-58.
19. Abou-Seif M, Youssef A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta* 2004; 346: 161-70.
20. Segelmark M, Perswson B, Hellmark T, Wieslander J: Binding and inhibition of myeloperoxidase (MPO): a major function of ceruloplasmin? *Clin Exp Immunol* 1997; 108: 167-74.

Durante el año 2009 ocurrieron dos emergencias sanitarias en la República Argentina. En el verano 2008/09 se produjo una epidemia de Dengue, con la aparición de casos autóctonos en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Luego de unos meses, la población del país debió enfrentar otra epidemia, esta vez por una nueva cepa del virus Influenza A (H1N1 pandémico).

Ante estas circunstancias, el Laboratorio de Inmunología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, debió implementar nuevas estrategias.

## Diagnóstico de laboratorio ante las infecciones por Dengue

Inicialmente se implementó la detección de anticuerpos específicos tipo IgM e IgG mediante la técnica de ELISA (enzimoinmunoensayo). Esta metodología permite el diagnóstico luego de la etapa aguda de la enfermedad (después del 5° día de la aparición de los síntomas).

Posteriormente, previniendo un nuevo brote de Dengue en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, se desarrolló la técnica de RT-PCR para el diagnóstico precoz, mediante la detección del virus en la fase aguda de la enfermedad (durante la viremia, en los primeros 5 días de aparición de los síntomas). Esta metodología permite tipificar el virus detectado en una segunda ronda de amplificación (1) (2).

## Diagnóstico de laboratorio ante las infecciones por Influenza A

El diagnóstico de infecciones respiratorias virales se realiza en forma habitual desde el año 1996, mediante inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales específicos. Por esta metodología se pueden diagnosticar las infecciones provocadas por los virus de: Influenza A, Influenza B, Parainfluenza 1, 2 y 3; Adenovirus y Virus Sincicial Respiratorio, con elevada sensibilidad y especificidad en los aspirados nasofaríngeos de los pacientes pediátricos.

A partir de la pandemia por Influenza A H1N1, en junio de 2009, se quintuplicó el número de exámenes realizados con la incorporación del procesamiento de hisopados nasales provenientes de pacientes adultos (estudios posteriores refirieron una menor sensibilidad del hisopado nasal en adultos, motivo por el cual actualmente se recomienda utilizarlo en pacientes adultos dentro de las primeras 48 - 72 horas de iniciada la sintomatología).

Esta metodología no permite la identificación específica del virus de Influenza A H1N1, la que se realiza mediante RT-PCR en Tiempo Real. Durante la Emergencia Sanitaria las muestras se derivaron para su confirmación al Centro de Referencia ANLIS-MALBRÁN y posteriormente a los laboratorios de Virología de los Hospitales Ricardo Gutiérrez y Francisco Muñiz, de acuerdo con la edad del paciente (3).

*Acta Bioquím Clín Latinoam* 2010; 44 (3): 385-433

## GRUPO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

### Avances en el diagnóstico de infecciones por los virus dengue e Influenza A

Marcelo Rodríguez Fermepin<sup>1</sup>, María Lucía Gallo Vaulet<sup>2</sup>, Andrea Carolina Entrocassi<sup>3</sup>, Rubén Salvador Absi<sup>4</sup>, Ana Inés Portu<sup>5</sup>, Gladys Orfus<sup>5</sup>

1. Dr. de la Universidad de Buenos Aires
2. Bioquímica, Becaria Doctoral de la UBA
3. Bioquímica y Farmacéutica, Becaria Doctoral de la UBA
4. Bioquímico
5. Bioquímica

Lugar de trabajo: INFIBIOC, UBA y Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

E-mail: mrfchlam@ffyb.uba.ar

Para cumplir con las condiciones de bioseguridad necesarias para el trabajo con los especímenes clínicos, la Facultad de Farmacia y Bioquímica adquirió dos cabinas de seguridad biológica Clase II tipo A2 para ser instaladas en los laboratorios de Inmunología Clínica y Bacteriología Clínica, los cuales procesan las muestras de los pacientes con sospecha diagnóstica y requieren, para su manipulación, medidas de bioseguridad y seguridad operativa adecuadas.

Mientras se avanza en la adquisición del equipamiento necesario para la realización de la metodología de referencia (RT PCR en tiempo real), se desarrollaron otros avances en el diagnóstico de infecciones virales respiratorias. Por una parte, se incorporó al panel de virus respiratorios ya investigados, el diagnóstico de Metapneumovirus humano y se optimizó una PCR convencional con retrotranscripción para la detección específica del gen M (que codifica para la proteína Matriz) de Influenza A con el protocolo propuesto por la Red de Laboratorios de Influenza y Virus Respiratorios, ANLIS Malbrán que proveyó los partidores y los controles necesarios para su implementación. El mismo laboratorio de referencia llevó adelante un control de calidad externo en el cual el Laboratorio de Inmunología Clínica obtuvo un 100% de concordancia. A partir de esa validación se inició el diagnóstico de infección por el virus Influenza A mediante esta metodología. Desde mayo de 2010, se han procesado más de 80 muestras y en ninguna de ellas se detectó la cepa pandémica. Finalmente, otro hecho de importancia para el laboratorio, fue su incorporación al Sistema Nacional de Vigilancia Laboratorial, SIVILA, dependiente del Ministerio de Salud de la Nación.

Todos estos avances han sido posibles gracias a la voluntad y el esfuerzo de todos los integrantes del laboratorio.

La adquisición de los equipos pertinentes de PCR-RT se utilizará para centralizar todas las muestras provenientes de pacientes de la Red de Hospitales Universitarios (Instituto Lanari, Instituto de Tisiopneumología e Instituto de Oncología Ángel Roffo) con sospecha de infección por Influenza A H1N1.

Esta experiencia permite reforzar la idea de constituir, sólidamente, una Red de Hospitales Universitarios para coordinar actividades conjuntas y responder eficientemente ante las demandas de nuevas emergencias sanitarias.

## Referencias bibliográficas

1. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam V. Rapid Detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30 (3): 545-51.
2. Barrero PR, Mistchenko AS. Genetic analysis of Dengue virus type 3 isolated in Buenos Aires, Argentina. *Virus Res* 2008; 135: 83-8.
3. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans-revised. Disponible en: [http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO\\_Diagnostic\\_RecommendationsH1N1\\_20090521.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf)

Acta Bioquím Clín Latinoam 2010; 44 (3): 385-433

## GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

### Resumen del Proyecto

# Abordaje de nuevos problemas en viejos patógenos con alto impacto en la salud humana

Ángela Famiglietti<sup>1</sup>, Beatriz Perazzi<sup>1</sup>,  
Susana García<sup>2</sup>

1. Doctora de la Universidad de Buenos Aires
2. Especialista en Bioquímica Clínica, Área Bacteriología Clínica

Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica - INFIBIOC-UBA y Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

E-mail: famiglie@ffyb.uba.ar

La interacción entre huésped y patógeno en la infección es un proceso dinámico y en continuo cambio. En los últimos años se ha asistido a la reconsideración de patógenos emergentes de baja virulencia, pero también a notables cambios en la epidemiología, presentación clínica, virulencia y resistencia antibiótica en los microorganismos relacionados con infecciones en el ser humano. En este contexto, es un desafío para el Laboratorio de Microbiología satisfacer las demandas de diagnóstico rápido, vigilancia y detección de la resistencia a los antimicrobianos, para sustentar los tratamientos empíricos.

El presente proyecto propone estudiar de manera integral los aspectos epidemiológicos y resistencia a los antimicrobianos en los siguientes patógenos, entre otros:

*Staphylococcus aureus*: es un viejo patógeno que ocasiona infecciones leves a graves de piel y partes blandas, infecciones osteoarticulares y neumonía pos-influenza, entre otras. A partir del año 2005 se ha afrontado la emergencia de *S. aureus* meticilino-resistente adquirido en la comunidad (SAMR-AC), que causa las mismas patologías, pero que revisten mayor gravedad y afectan especialmente a pacientes pediátricos. Estos aislados presentan resistencia a todos los antibióticos beta-lactámicos sin resistencia asociada a otros antimicrobianos. Esta resistencia mediada por el gen *mecA* se ubica en el

*cassette* SCC *mec* tipo IV y V y frecuentemente poseen un gen codificante para un factor de virulencia específico, la leucocidina de Panton Valentine (LPV). Todos nuestros aislamientos de SAMR-AC presentaron el *cassette* SCC *mec* IV y sólo el 62% presentó la LPV. La clindamicina y los macrólidos son las drogas más activas para el tratamiento de las infecciones de piel y partes blandas por SAMR-AC, pero el amplio uso de estos antimicrobianos ha seleccionado cepas resistentes con diferentes fenotipos. Se observó un 15% de resistencia a eritromicina de tipo inducible. Para aquellas infecciones graves que comprometen la vida del paciente se debe recurrir a vancomicina o antibióticos de última generación como linezolid y daptomicina, con sus limitaciones terapéuticas. Y nuevamente el amplio uso de vancomicina fundamentalmente a nivel hospitalario trae aparejada otra emergencia como la aparición de cepas de *S. aureus* con sensibilidad disminuida a vancomicina (VISA) y Hetero VISA donde fracasa el tratamiento con este antimicrobiano. Cabe destacar que estas últimas ya fueron encontradas por este grupo de investigación.

*Streptococcus pneumoniae*: continúa siendo el principal responsable de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC), especialmente en la población pediátrica y mayores de 65 años y en pacientes con cuidados crónicos de la salud (NACS). Ha adquirido resistencia a todos los antimicrobianos empleados en su tratamiento, salvo vancomicina. Este grupo ha demostrado que amoxicilina, independientemente de la vía de administración, continúa siendo la droga de elección en esta patología; mientras que los macrólidos (eritromicina) deberían utilizarse con precaución, ya que se encontró un 19,2% de resistencia a eritromicina. La resistencia a levofloxacina fue 1,6% y aunque gatifloxacina y moxifloxacina continúan sensibles, debería desestimarse su uso en aquellos aislamientos resistentes a levofloxacina para prevenir la selección de resistencia.

*Neisseria gonorrhoeae* con resistencia a fluorquinolonas (NGRFQ): este grupo ha documentado 32,2% de resistencia a ciprofloxacina en HSH y 16% en heterosexuales. Esta amplia circulación de NGRFQ lleva a desestimar el uso de fluorquinolonas en el tratamiento empírico de la gonorrea en nuestra población (1).

*Trichomonas vaginalis*: el diagnóstico de la infección por *Trichomonas vaginalis* durante el embarazo reviste gran importancia, ya que predispone a rotura prematura de membrana, labor pretérmino y bajo peso al nacer. La trichomoniasis es una infección de transmisión sexual que puede presentarse en forma asintomática en un 10 a un 50% de los casos. El diagnóstico a través del

examen microscópico presenta una baja sensibilidad (35-80%), sobre todo en pacientes asintomáticas, motivo por el cual es necesario implementar metodologías más sensibles. El cultivo en medio líquido es considerado el método de mayor precisión (método de referencia) para el diagnóstico de trichomoniasis (2). Este grupo documentó en embarazadas una prevalencia por cultivo del 4%. Cabe destacar que en la mitad de los casos la presentación fue asintomática. Por la baja sensibilidad de los exámenes microscópicos, especialmente en pacientes asintomáticas, se recomienda la utilización del cultivo para su diagnóstico, con el objeto de instaurar un precoz y adecuado tratamiento para prevenir posibles complicaciones maternas y perinatológicas.

*Streptococcus agalactiae* (EGB): la colonización por EGB durante el embarazo reviste gran importancia por la posibilidad de transmisión al neonato y además por ser una causa frecuente de infecciones durante la gestación y el puerperio. Sin medidas de prevención, aproximadamente el 50% de las mujeres colonizadas transmiten EGB a sus recién nacidos durante el parto y de estos neonatos colonizados, el 1 al 2% desarrollan una infección precoz, como la neumonía, sepsis o meningitis, con una mortalidad de alrededor del 5%. La profilaxis intraparto con penicilina o ampicilina previene la infección neonatal, disminuyendo la incidencia anual de casos por debajo del 0,6‰. El grupo ha documentado entre 10 y 15% de portación de EGB en embarazadas (3). Estos aislamientos fueron sensibles a penicilina y observamos un 15% de resistencia a eritromicina, droga utilizada en aquellas pacientes alérgicas a penicilina. Se hace hincapié en la búsqueda sistemática de EGB en gestantes entre las 35 a 37 semanas y en la detección de la resistencia a macrólidos en las pacientes alérgicas a penicilina.

## Referencias bibliográficas

1. Garcia S, Casco R, Perazzi B, De Mier C, Vay C, Familietti A. Resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a ciprofloxacina según hábitos sexuales. Medicina (Buenos Aires) 2008; 68 (5): 358-62.
2. Perazzi B, Menghi C, Coppolillo E, Gatta G, Cora Elizeth M, Vay C, et al. Investigación de *Trichomonas vaginalis* durante el embarazo mediante diferentes metodologías. Rev Argent Microbiol 2007; 39: 99-104.
3. Perazzi B, Coppolillo E, García S, Cora Eliseht M, Ortiz E, de Torres R, et al. Colonización por estreptococo grupo B en gestantes provenientes de un hospital universitario. Rev Soc Obstet Ginecol (Buenos Aires). 2006; 37 (198): 191-5.

# Biomarcadores y factores de riesgo de enfermedad cardiovascular

Leonardo Gomez Rosso<sup>1</sup>, Laura Boero<sup>2</sup>, Tomás Meroño<sup>3</sup>, Fernando Brites<sup>4</sup>

1. Dr. de la Universidad de Buenos Aires, becario Post-doctoral de CONICET.
2. Bioquímica, Especialista en Bioquímica Clínica, Area Endocrinología, Tesista de Doctorado de la Universidad de Buenos Aires.
3. Bioquímico, Tesista de Doctorado de la Universidad de Buenos Aires, becario doctoral de CONICET.
4. Director del grupo en formación, Dr. de la Universidad de Buenos Aires, Investigador Adjunto de CONICET

Lugar de trabajo: Grupo de Lipoproteínas y Aterosclerosis. Líneas de Trabajo: Hipertrigliceridemia, Resistencia insulínica, Endocrinopatías, Metabolismo del Hierro INFIBIOC-UBA, y Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

E-mail: fdbrites@hotmail.com

Con la finalidad de evaluar biomarcadores y factores de riesgo de aterosclerosis, este grupo se encuentra avocado al estudio de distintas situaciones patológicas, algunas de ellas con elevada morbi-mortalidad por enfermedad cardiovascular. Se destacan la hipertrigliceridemia, endocrinopatías asociadas a resistencia insulínica (Acromegalia y Síndrome de Cushing), y trastornos del metabolismo del hierro (Anemia Ferropénica y Sobrecarga de Hierro).

## Hipertrigliceridemia asociada a resistencia insulínica

Si bien durante los últimos años se han llevado a cabo numerosos trabajos tendientes a caracterizar los distintos factores de riesgo aterotrombóticos asociados a la hipertrigliceridemia, aún no se conoce con exactitud si las alteraciones descriptas se asocian inequívocamente a la hipertrigliceridemia, independientemente de la presencia de resistencia insulínica. Para dilucidar esta situación se evaluaron pacientes con hipertrigliceridemia y resistencia insulínica (HTG-RI) en comparación con individuos con hipertrigliceridemia sin resistencia insulínica (HTG-SRI) y sujetos normotriglicéridémicos sin resistencia insulínica (NTG-SRI).

De acuerdo con los resultados obtenidos hasta el momento (1), al comparar ambos grupos de pacientes HTG con controles NTG-SRI, se observó: a) incremento de triglicéridos a expensas de la lipoproteína de muy

baja densidad (VLDL), b) disminución de colesterol de la lipoproteína de alta densidad (C-HDL), de conocido rol ateroprotector, c) disminución de adiponectina, principal adipoquina insulinosensibilizante y antiaterogénica, y d) aumento de la actividad de la proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP), responsable de modular la composición química de las lipoproteínas. Por otro lado, la comparación del grupo de pacientes HTG-RI con aquellos NTG-SRI, mostró aumentos significativos de la circunferencia de cintura, del C-no-HDL, de la molécula de adhesión endotelial selectina E y de la lipoproteína de baja densidad (LDL) oxidada, marcador del proceso oxidativo que tiene lugar en el espacio subendotelial y base de la formación de la placa ateromatosa.

En conclusión, en los pacientes hipertriglicéridémicos, se detectaron alteraciones en el perfil lipoproteico, la adiponectina y la actividad de CETP. La presencia de RI en pacientes HTG se asoció a incremento de los niveles de C-no-HDL, de selectina E y de LDL oxidadas, los cuales constituyen fuertes bioindicadores de inflamación y activación endotelial. En consecuencia, el riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular de la HTG se vería acentuado por la RI.

## Endocrinopatías asociadas a resistencia insulínica (Acromegalia y Síndrome de Cushing)

La enfermedad cardiovascular aterosclerótica es la principal complicación detectada en ciertas endocrinopatías como la acromegalia y el síndrome de Cushing, lo cual contribuye a aumentar la morbi-mortalidad en dichas patologías.

Muchos de los pacientes afectados por estas endocrinopatías, cuyas etiologías son diferentes en referencia al eje hormonal afectado, eje somatotrófico en acromegalia y eje adrenal en síndrome de Cushing, compartirían una alteración metabólica como es la resistencia insulínica. De los datos disponibles en la literatura, resulta difícil discernir las alteraciones debidas a la resistencia insulínica de aquellas generadas específicamente por las hormonas cuyo desbalance es propio de las patologías en estudio (acromegalia y síndrome de Cushing).

Surge, en consecuencia, la necesidad de caracterizar exhaustivamente los factores de riesgo y biomarcadores de aterosclerosis, lipídicos y no lipídicos, clásicos y emergentes, así como los agentes ateroprotectores en pacientes con estas endocrinopatías.

Los resultados obtenidos en el estudio de pacientes con acromegalia activa (2) mostraron presencia de un perfil lipoproteico aterogénico caracterizado por incremento de triglicéridos asociado a disminución de C-

HDL y aumento de la actividad de CETP, parcialmente responsable de las alteraciones descriptas. Más aún, los niveles de LDL oxidada (3) se encontraban aumentados, al igual que aquellos de la molécula de adhesión VCAM-1 y de moléculas de adhesión localizadas en los leucocitos. Por otro lado, los pacientes acromegálicos presentaron elevación de endotelina 1, principal vasoconstrictor del organismo. En la mayoría de estos pacientes se observó resistencia insulínica (evaluada a través del índice HOMA-R) la cual, de acuerdo con un análisis de regresión lineal multivariado, se asociaría independientemente al incremento de la LDL oxidada.

En los pacientes con síndrome de Cushing también se detectó un perfil lipoproteico aterogénico en comparación con controles sanos pareados por sexo y edad. Al igual que en el estudio de acromegalia, la mayoría de los pacientes con síndrome de Cushing presentaron resistencia insulínica, en este caso asociada a aumento de los niveles de resistina.

## Alteraciones del metabolismo del hierro

En referencia a la sobrecarga de hierro, desde el planteo de la hipótesis del hierro que relaciona los niveles elevados con el riesgo de enfermedad cardiovascular, hasta la actualidad, los resultados de los estudios epidemiológicos no han sido concluyentes. Por lo tanto, se planteó como objetivo determinar factores de riesgo de enfermedad cardiovascular lipídicos y no lipídicos en pacientes de sexo masculino con sobrecarga de hierro y compararlos con controles sanos pareados por sexo y edad. Los pacientes con sobrecarga de hierro presentaron resistencia insulínica, la dislipemia aterogénica característica de esta condición, y alteraciones en las actividades de CETP, paraoxonasa 1 y fosfolipasa A<sub>2</sub> asociada a lipoproteínas (Lp-PLA<sub>2</sub>), actualmente considerada marcador específico del proceso inflamatorio vascular y de la vulnerabilidad de placa. Estas modificaciones metabólicas no sólo se asociaron a la resistencia insulínica sino también a los niveles de ferritina, marcador de los depósitos titulares de hierro (4).

Por otro lado, la anemia por deficiencia de hierro es actualmente una de las deficiencias de micronutrientes más

prevalentes en el mundo. En Argentina se informó una prevalencia de un 20% en mujeres en edad fértil no embarazadas. Informes previos sobre alteraciones en el perfil lipoproteico en pacientes con anemia ferropénica en comparación con controles resultaron controvertidos. No obstante, estudios realizados en la población general indicaron que la presencia de anemia se hallaba asociada a mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, tanto en hombres como en mujeres. El objetivo de este grupo consiste en evaluar bioindicadores de inflamación y de enfermedad cardiovascular en pacientes de sexo femenino con anemia ferropénica en comparación con controles sanos. En los estudios realizados hasta el momento, las pacientes anémicas presentaron: a) aumento de triglicéridos y disminución de C-HDL, b) incremento de actividad de CETP, c) disminución de actividad de la enzima antioxidante paraoxonasa 1 y d) aumento de actividad de Lp-PLA<sub>2</sub>. En conclusión, la anemia por deficiencia de hierro podría representar un estado proaterogénico (5).

## Referencias bibliográficas

1. Gómez Rosso L, Meroño T, Benítez MB, López G, Giunta G, D'Ambrosio ML, *et al.* Low adiponectin levels in primary hypertriglyceridemic male patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19: 135-9.
2. Boero L, Manavela M, Gómez Rosso L, Insua C, Berardi V, Fornari MC, *et al.* Alterations in biomarkers of cardiovascular disease (CVD) in active acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 70: 88-95.
3. Boero L, Cuniberti L, Magnani N, Manavela M, Yapur V, Bustos M, *et al.* Increased oxidized LDL associated with high ceruloplasmin activity in patients with active acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 72: 654-60.
4. Meroño T, Sorroche P, Gómez Rosso L, Casañas L, Boero L, Arbelbide J, *et al.* Riesgo cardiovascular elevado en pacientes con sobrecarga de hierro. *Bioquím Pat Clín* 2009; 73: 16-21.
5. Meroño T, Sorroche P, Gómez Rosso L, Casañas L, Boero L, Arbelbide J, *et al.* Proatherogenic disturbances in lipoprotein profile, associated enzymes and transfer proteins in women with iron deficiency anaemia. *Clin Biochem* 2010; 43: 416-23.

## PROGRAMA DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Grupos de Investigación en  
Péptidos Natriuréticos,  
Angiotensina y Factores  
Neurotróficos en diversos estados  
fisiológicos y fisiopatológicos.  
Grupo de Farmacología  
Cardiovascular  
Grupo: Síndrome Metabólico  
Experimental

Belisario Fernández<sup>1</sup>, Carlos Taira<sup>2</sup>,  
Ana María Puyó<sup>3</sup>, Martín Rodríguez  
Fermepin<sup>4</sup>, Horacio Peredo<sup>5</sup>

1. Dr. en Medicina, Investigador Principal del CONICET
2. Dr. en Farmacia y Bioquímica, Investigador Independiente del CONICET
3. Dra de la Universidad de Buenos Aires.
4. Dr de la Universidad de Buenos Aires.
5. Dr. en Bioquímica, Investigador Principal del CONICET.

Lugar de trabajo: INFIBIOC-UBA y Departamentos de Ciencias Biológicas y de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires  
E-mail: befernan@ffybio.uba.ar

Los investigadores del INFIBIOC pertenecientes a las Cátedras de Fisiopatología, Farmacología y Anatomía Macro y Microscópica se encuentran desarrollando un programa que estudia aspectos fisiológicos, fisiopatológicos y farmacológicos relacionados con la etiopatogenia y el desarrollo de la hipertensión arterial.

Los distintos grupos están integrados por docentes investigadores de la UBA, pertenecientes a la Facultad de Farmacia y Bioquímica y por miembros de la Carrera del Investigador Científico del CONICET, que participan en proyectos de investigación dirigidos por los Dres. Belisario Fernández, Carlos Taira, Ana María Puyó y Horacio Peredo, subvencionados por la Universidad de Buenos Aires, la ANPCYT y el CONICET, los que cuentan con becarios estudiantes y graduados doctorales y posdoctorales, de estas Instituciones. Los estudios sobre la hipertensión arterial, están enfocados fundamentalmente en cuatro áreas de investigación básica experimental: a) cardiovascular; b) renal; c) endócrina y metabólica y d) sistema nervioso central.

Para las investigaciones se desarrollaron metodologías aplicadas *in vivo* e *in vitro*, utilizándose diversas técnicas, entre las que se pueden mencionar, técnicas de biología molecular, inmunohistoquímica, radioquímica, ELISA, HPLC, enzimometría, radioinmunoensayo, microdiálisis cerebral e intraarterial, y ensayos biológicos mediante infusión y perfusión de drogas. Varios de los trabajos fueron realizados en colaboración con investigadores pertenecientes a otros Institutos y Laboratorios de la Universidad de Buenos Aires y del CONICET.

### ÁREA CARDIOVASCULAR:

Evolución de la síntesis y secreción cardíaca de los Péptidos Natriuréticos ANP y BNP durante el desarrollo de la hipertrofia de miocardio

Se estudiaron las características y evolución de la síntesis y secreción de los Péptidos natriuréticos ANP y BNP en la hipertrofia de miocardio asociada a la hipertensión arterial. Se utilizaron modelos de sobrecarga de volumen que desarrollan hipertrofia de tipo excéntrica, modelos de sobrecarga de presión que desarrollan hipertrofia de tipo concéntrica y modelos mixtos con ambas características y con secuencias opuestas. En ellos se valoraron los perfiles de síntesis y secreción de los péptidos y su correlación con valores histomorfométricos, que caracterizan a la hipertrofia de miocardio, y con registros de la funcionalidad ventricular. Los resultados mostraron que el ANP se correlaciona con la hipertrofia asociada a sobrecarga de volumen y el BNP con la hipertrofia asociada a la sobrecarga de presión, pudiendo considerarse al ANP y al BNP como indicadores bioquímicos prácticos para tipificar la evolución de las hipertrofias de miocardio excéntricas y concéntricas respectivamente.

Los estudios constituyeron el tema de la Tesis Doctorales de la Dra Susana Cavallero y de la Becaria Carolina Cerrudo, originaron 2 publicaciones y fueron realizados en colaboración con el Dr. Ricardo Gelpi (Instituto de Patología, Facultad de Medicina, y la Dra. Cecilia Hertig (INGEBI, CONICET).

Propiedades farmacodinámicas *in vivo* e *in vitro* de bloqueantes beta-adrenérgicos de tercera generación en modelos de hipertensión experimental

La meta de la presente línea es caracterizar la relación entre los niveles plasmáticos y los efectos cardiovasculares del carvedilol y nebivolol mediante modelos PK-PD y evaluar la actividad de agonismo inverso de los mismos



en distintos modelos de hipertensión experimental. En ratas espontáneamente hipertensas, se estudia la aplicabilidad de un modelo farmacodinámico Emax modificado para el modelaje PK-PD del antagonista diltiazem en esas ratas. En ratas con hipertensión por coartación aórtica, se comparan diferentes modelos farmacodinámicos para el modelaje PK-PD de verapamilo.

### Efectos de fármacos antihipertensivos sobre la variabilidad de la presión arterial y frecuencia cardíaca en modelos experimentales de hipertensión

El proyecto propone evaluar el efecto de diversos antihipertensivos, entre ellos el nebivolol (antagonista beta-adrenérgico de tercera generación), el irbesartán (antagonista de receptores angiotensinérgicos AT<sub>1</sub>), y el verapamilo (bloqueante de canales de calcio), sobre los diferentes componentes de la variabilidad de la presión arterial en diferentes modelos experimentales de enfermedad cardiovascular. También tiene como propósito el desarrollo de modelos PK-PD mecanicistas para la caracterización profunda del mecanismo de acción *in vivo* de los distintos fármacos antihipertensivos bajo estudio.

#### AREA RENAL:

### Efectos inflamatorios y fibróticos renales de una sobrecarga de sodio. Mecanismos fisiopatológicos y su prevención y/o reversión

Se estudiaron los efectos proinflamatorios de la administración aguda de una sobrecarga de sodio sobre el riñón. Se valoró también la inexistencia de daño histológico y de funcionamiento renal. La infusión aguda de soluciones hipertónicas de cloruro de sodio produjo precozmente, en tan sólo dos horas, la sobreexpresión en las células tubulares renales y en el intersticio renal de los principales marcadores proinflamatorios y de fibrosis. El hecho de que se sobreexpresen factores de hipoxia tisular (HIF), de transcripción nuclear (NFκB) y de crecimiento (Angiotensina II tisular), demuestra que la sobrecarga de sodio desencadena, al incrementar el flujo tubular y el trabajo reabsortivo, una cascada de eventos que se inicia por una hipoxia relativa seguida de estrés oxidativo, inflamación tubular y fibrosis. Estos procesos fueron prevenidos y/o revertidos con la administración de ANP, bloqueantes de los receptores AT<sub>1</sub> de la angiotensina II (losartan) y del estrés oxidativo (tempol). Los estudios se continuaron en

períodos crónicos, obteniéndose resultados consecuentes con los del período agudo. Estos estudios constituyeron el tema de las Tesis Doctorales de la Dra María Inés Rosón y de la Farm. Silvana Della Penna y originaron 6 publicaciones.

### Regulación hormonal del metabolismo de la dopamina renal. Su incidencia sobre la actividad de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, ATPasa renal.

Se estudió la regulación hormonal del metabolismo de la dopamina renal y la actividad de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>ATPasa renal por los péptidos vasoactivos ANP y angiotensina II y por el péptido natriurético renal urodilatin. Se demostró que los tres péptidos regulan el metabolismo de la dopamina renal y ejercen efectos directos e indirectos sobre la bomba enzimática. El ANP y el urodilatin aumentan la disponibilidad de DA tubular renal al aumentar su captación y síntesis e inhibir su catabolismo, inhibiendo además indirectamente la actividad de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>ATPasa renal. Estos efectos, fueron opuestos a los de la angiotensina II, natural antagonista fisiológico de los péptidos natriuréticos.

Se demostró, de esta manera, que los péptidos vasoactivos poseen efectos natriuréticos/antinatriuréticos directos e indirectos. Estos últimos se producen a través de la dopamina renal, cuyo metabolismo regulan y de la sobre activación/inhibición de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>ATPasa renal. Estos estudios constituyeron el tema las Tesis Doctorales de la Dra Alicia Correa, el Dr. Marcelo Choi y la Bioq. Marisa Citarilla, dieron origen a 7 publicaciones y fueron realizados en colaboración con el Dr. Jorge Toblli (Facultad de Medicina-CONICET, Hospital Alemán).

#### AREA ENDÓCRINO- METABÓLICA

### Modelo de síndrome metabólico por sobrecarga de fructosa en la rata: alteraciones centrales y periféricas e implicancias farmacológicas

La sobrecarga dietaria de fructosa induce un cuadro experimental de síndrome metabólico caracterizado por la presencia de resistencia a la insulina e incremento en la presión arterial (PA). La resistencia a la insulina es un factor clave para el incremento patológico de la PA, pues estimula sistemas vasoconstrictores y antinatriuréticos que provocan cambios morfológicos en los vasos sanguíneos, el sistema nervioso central, el riñón y el corazón. El aumento de la sensibilidad a la insulina en respuesta al tratamiento farmacológico, podría llevar a la reversión del cuadro hipertensivo y del daño en órganos

blanco. La insulina puede activar al sistema nervioso simpático (SNS) a través de vías neuronales intrahipotalámicas, cuya lesión puede también revertir la hipertensión y el daño en órganos blanco.

Se estudiaron: a) el desarrollo de alteraciones metabólicas, cardiovasculares y morfológicas provocadas por la sobrecarga oral de fructosa en la rata; b) la expresión y fosforilación de intermediarios de las vías de señalización de la insulina (MAPK y PI3-K); c) las alteraciones en el metabolismo oxidativo; d) las alteraciones en la actividad del sistema renina-angiotensina y SNS; f) los efectos de la lesión de áreas hipotalámicas relacionadas con la insulina, sobre parámetros metabólicos y cardiovasculares; g) los efectos de la resistencia a la insulina y de la dislipemia sobre el desarrollo de alteraciones metabólicas, hemodinámicas y estructurales.

Se comprobó que la sobrecarga de fructosa aumentó la trigliceridemia, los niveles plasmáticos de ANP y la PA y disminuyó la relajación de la aorta sometida a estímulos contráctiles. En el lecho mesentérico se observó engrosamiento de la túnica media y un incremento de la resistencia periférica, con alteraciones en la producción de prostanoïdes (PR): disminución de la liberación de vasodilatadores ( $PGE_2$ ) y aumento de vasoconstrictores (tromboxano), lo que sumado a la disminución de otro prostanoïde vasodilatador en aorta ( $PGI_2$ ) demuestra un desbalance que propende a aumentar la PA. Asimismo se detectaron alteraciones en la liberación de prostanoïdes en respuesta a la noradrenalina (aumentaron  $PGI_2$ , TX y  $PGF_{2a}$ ) y a la angiotensina II (aumentaron  $PGF_{2a}$  y  $PGE_2$ ), sugiriendo la existencia de un mecanismo compensador de la hipertensión.

También se encontraron alteraciones en el hipotálamo anterior, consistentes en una disminución en el tono simpato-inhibitorio de receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos y en los niveles de NA, conjuntamente con un incremento del tono  $\beta_1$ -adrenérgico presor, de receptores AT1 y de la respuesta presora central a la angiotensina AII, todo lo cual incrementa la actividad simpática y la PA. Los trabajos se realizaron en colaboración con la Dra. Mónica Galleano y los Dres. Daniel Turyn y Fernando Dominici (Departamentos de Físicoquímica y Química Biológica de la FFyB-UBA) y el Dr. Alberto Monserrat (Facultad de Medicina, UBA). Estos estudios constituyeron el tema de la Tesis Doctoral del Dr. Marcos Mayer y dieron origen a 8 publicaciones.

## ÁREA SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

### Regulación de la neurotransmisión noradrenérgica en el hipotálamo por los factores neurotróficos

Se estudiaron los efectos agudos o a corto plazo de diversos factores de crecimiento (neurotrofinas), relacio-

nados con el desarrollo y la supervivencia neuronal, sobre el metabolismo de la noradrenalina en el hipotálamo. Se demostró que diversos factores neurotróficos como el BDNF, GDNF, IL-6, CT-1, LIF y las Neurotrofinas 3 y 4 GDNF modulan la captación y/o la liberación estimulada presináptica de la noradrenalina en áreas hipotalámicas estrechamente relacionadas con el control de la actividad simpática y la presión arterial. Se caracterizaron el receptor (Trk B) y las distintas vías de señalización intracelular (PLC y PI3K) involucradas en estos procesos. Estos estudios constituyeron el tema de la Tesis Doctoral del Dr. Martín Rodríguez Fermepín y originaron 1 publicación.

## Estudios farmacológicos en la hipertensión arterial experimental: participación de las vías catecolaminérgicas y otros sistemas en el SNC

En los modelos de hipertensión experimental están comprometidos los mecanismos regulatorios, el sistema nervioso central y también el tono autonómico periférico, los receptores vasculares y cardíacos. Este compromiso orgánico estaría relacionado con los mecanismos y efectos de los fármacos. Por otra parte, estarían interviniendo también modificaciones en los mecanismos de distribución y eliminación de éstos. De ahí es que los cambios y adaptaciones del organismo por esta patología influyen sobre los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de las drogas antihipertensivas. Por ello se investiga cómo se relaciona el funcionamiento de vías aminérgicas y del sistema renina-angiotensina hipotalámicos y el compromiso del corazón y vasos, la farmacodinamia y la farmacocinética de fármacos antihipertensivos (bloqueantes  $\beta$ , antagonistas AT1, antihipertensivos de acción central, etc) en modelos de hipertensión experimental.

Estudiando la hipertensión arterial a través de sus modelos experimentales (coartación de la aorta abdominal, el genético de ratas espontáneamente hipertensas, sobrecarga de fructosa y otros) y el de labilidad de presión arterial o de desnervación sinoaórtica, el objetivo es estudiar la participación de los adrenoceptores  $\alpha$  y  $\beta$  (en especial el subtipo  $\beta_3$  cardíaco y vascular), y el sistema renina-angiotensina en la regulación de la presión arterial y en cambios estructurales cardíacos y vasculares y los cambios farmacodinámicos y farmacocinéticos de antihipertensivos tales como los antagonistas de adrenoceptores  $\beta$  de segunda y tercera generación y antagonistas de receptores AT<sub>1</sub>.

## COLABORACIONES

### Mecanismos farmacocinéticos de la fármaco-resistencia a anticonvulsivantes en un modelo de convulsión experimental

En relación con la aplicación de la técnica de microdiálisis en estudios de Farmacocinética y Neurofarmacología, se está trabajando conjuntamente con el grupo de la Dra. Elena Girardi del Instituto de Biología Celular "Dr. Eduardo De Robertis", FM-UBA, tratando de dilucidar los mecanismos farmacocinéticos de la fármaco-resistencia a anticonvulsivantes en un modelo de convulsión experimental por tratamiento con 6-mercaptopurina. Para ello, se está estudiando la importancia de las bombas de extrusión (Glucoproteína P) y de diversos transportadores en la concentración de los anticonvulsivantes en el hipocampo de estos animales.

### Estudio farmacocinético de formulaciones de antivirales

Se está realizando un trabajo en colaboración con los Dres. Alejandro Sosnik y Diego Chiappetta del Departamento de Tecnología Farmacéutica, FFyB-UBA, para evaluar la farmacocinética del antiviral efavirenz en distintas formulaciones y vehículos.

### Estudio de las actividades antioxidantes, antiinflamatorias, analgésicas y cardiovasculares de *Chiliotrichum diffusum* (Asteraceae)

Con la Prof. María Luján Flores de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia "San Juan Bosco" se están continuando con un trabajo multidisciplinario (farmacognóstico y farmacológico) con el fin de estudiar las plantas patagónicas. En ese marco, se están estudiado las actividades antioxidantes, antiinflamatorias, analgésicas y cardiovasculares de *Chiliotrichum diffusum* (Asteraceae).

### Resumen bibliográfico

Choi MR, Lee B, Medici C, Correa AH, Fernández BE. Effects of Angiotensin II on Renal Dopamine Meta-

bolism: Synthesis, Release, Catabolism and Turnover. *Nephron Physiol* 2010;115 (1): 1-7.

Rosón MI, Della Penna SL, Cao G, Gorzalczy S, Pandolfo M, Toblli JE, *et al.* Different protective actions of losartan and tempol on the renal inflammatory response to acute sodium overload. *J Cell Physiol* 2010; 224: 41-8.

Cavallero S, Gonzalez GE, Seropian IM, Cerrudo CS, Matorra F, Morales C, *et al.* Ventricular function and natriuretic peptides in sequentially combined models of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298 (4): H 1290-9.

Alcalde SM, Taira CA, Höcht C, Córdoba OL, Flores ML. Fitoquímica y bioactividad de *Chiliotrichum diffusum* (Asteraceae), una especie nativa de la Patagonia Andina. *Latin American Journal of Pharmacy* 2010; 29 (2): 284-8.

Giani JF, Muñoz MC, Mayer MA, Veiras LC, Arranz C, Taira CA, *et al.* Angiotensin-(1-7) improves cardiac remodeling and inhibits growth-promoting pathways in heart of fructose-fed rats. *Am J Physiol Heart Circulatory Physiol* 298 (3): H1003-13.

Chiappetta DA, Höcht C, Taira C, Sosnik A. Efavirenz-loaded polymeric micelles for pediatric anti-HIV pharmacotherapy with significantly higher oral bioavailability. *Nanomedicine* 2010; 5 (1): 11-23.

Mayer MA, Giani JF, Höcht Ch, Dominicci FP, Silberman EA, Taira CA, *et al.* Centrally administered insulin potentiates the pressor response to angiotensin II. *Reg Peptides CA* (en prensa).

Rosón MI, Cao G, Della Penna SL, Gorzalczy S, Pandolfo M, Cerrudo C, *et al.* High Sodium Diet Promotes Profibrogenic Reaction in the Kidney from Normal Rats. Effects of Tempol Administration. *J Nephrology CA* (en prensa).

## La disfunción mitocondrial en la sepsis

Analía González<sup>1ab</sup>, Silvia Holod<sup>1ab</sup>, María Eugenia Elguero<sup>2c</sup>  
María Cecilia Carreras<sup>3a,b,c,d</sup>

1. Bioquímica, Tesista de Doctorado de la UBA
2. Lic. en Genética, Tesista de Doctorado de la UBA
3. Dra. de la UBA

<sup>a</sup> Grupo de Estudios Mitocondriales y Marcadores Tisulares en Enfermedades Inflamatorias y Tumorales. INFIBIOC. UBA

<sup>b</sup> Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

<sup>c</sup> Laboratorio de Metabolismo del Oxígeno, Hospital de Clínicas José de San Martín, UBA

<sup>d</sup> CONICET

E-mail: carreras@ffy.uba.ar

La sepsis es una respuesta inflamatoria sistémica asociada con un insulto infeccioso que se desarrolla cuando la respuesta inicial apropiada del huésped a una infección se amplifica y desregula. La mortalidad de esta entidad es de 30-40% en los pacientes añosos y es mayor del 50% en pacientes con *shock* séptico. El tratamiento antibiótico adecuado durante las primeras horas es determinante en su evolución. Los principales sitios de infección son los pulmones, la cavidad abdominal, el tracto urinario y las infecciones primarias del torrente circulatorio. El cuadro clínico resultante ha sido denominado Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) y que se define por la presencia de fiebre o hipotermia, taquipnea, taquicardia, y leucocitosis o leucopenia, en el contexto de un paciente con una agresión capaz de generar los mecanismos inflamatorios. Un diagnóstico microbiano se realiza en el 50% de los casos y el 60% de los mismos se deben a bacilos gramnegativos productores de endotoxinas (lipopolisacáridos de la pared bacteriana) y el resto a grampositivos. Los agentes infecciosos gatillan los mecanismos de respuesta inflamatoria, la mayoría de las veces siguiendo un orden jerárquico de compromiso creciente de diversos parénquimas y funciones dependiendo de las interacciones entre patógeno y huésped. La respuesta cobra autonomía del agente etiológico a medida que se extiende y despliega mecanismos de defensa frente a los microorganismos y perturbaciones fisiológicas que comprometen las funciones vitales del propio huésped.

El proceso fisiopatológico subyacente involucra la activación endotelial generalizada y la producción de citoquinas, muchas de las cuales estimulan la expresión de la enzima óxido-nítrico-sintasa-inducible en células endoteliales y del músculo liso vascular, resultando en la producción de óxido nítrico (NO). En el caso del hígado y el músculo esquelético, su expresión deriva en forma predominante de las células parenquimatosas, mientras que en el pulmón por lo menos un 50% proviene de fuentes leucocitarias, principalmente neutrófilos. La demostración de residuos de nitrotirosina en endotelio e intersticio pulmonar de niños con injuria pulmonar inducida por sepsis ha sido interpretada como evidencia a favor de un mecanismo de daño celular mediado por peroxinitrito, el cual oxida los lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos.

En los últimos años, se ha estudiado la participación del deterioro de la función mitocondrial en la patogénesis de la sepsis. Este grupo ha demostrado el compromiso de la función mitocondrial diafragmática durante la endotoxemia y la participación de la iNOS en la génesis de este fenómeno a través del aumento en las concentraciones en el estado estacionario de NO y anión superóxido, y su producto de reacción, peroxinitrito (1). El daño mitocondrial por nitración y oxidación de proteínas por el peroxinitrito formado sigue una cinética pa-

ralela a la falla contráctil diafragmática.

Las mitocondrias generan ATP predominantemente a través de la fosforilación oxidativa. La cadena de transporte de electrones de los complejos enzimáticos y las moléculas transportadoras están asociadas a la membrana interna mitocondrial. La nicotinamina reducida (NADH) y los dinucleótidos de flavin adenina, producidos por la oxidación de nutrientes en el ciclo de Krebs, donan electrones a los complejos I y II, respectivamente. Luego, los electrones son transferidos a los complejos III y IV, transportados vía la coenzima Q y el citocromo c, y finalmente el oxígeno es reducido a H<sub>2</sub>O. Bajo condiciones de alto potencial de membrana, se pueden escapar electrones desde los complejos I y III, resultando en la formación de anión superóxido.

La presencia de altos niveles de NO en la mitocondria ya sea por internalización de la NOS inducible o por la difusión del NO sintetizado en el citosol durante los procesos inflamatorios, produce la inhibición de la cadena de transporte de electrones en el segmento b-c del complejo III aumentando, a su vez, la formación de anión superóxido (2). La síntesis simultánea de anión superóxido y NO en la mitocondria favorece la formación de peroxinitrito y el daño de los centros Fe-S, la nitración de tioles y la nitración de tirosinas, particularmente afectando el complejo I en forma progresiva, conduciendo a la inhibición prolongada de la respiración mitocondrial (3). Por otro lado, la síntesis de ciertas subunidades del complejo I disminuye en la sepsis. Este grupo ha observado una reducida actividad del complejo I en hígado y músculo esquelético en animales sépticos (12 h-post tratamiento con LPS) y en músculo esquelético de pacientes sépticos. La limitada velocidad de transferencia de electrones a través del complejo I restringe críticamente la síntesis de ATP y contribuye a sostener la producción de anión superóxido a este nivel traduciéndose en mayor daño. La disminución en la generación de ATP puede comprometer la actividad metabólica celular normal, llevando a la disfunción orgánica bioquímica y fisiológica.

Dada la ubicuidad de la producción de NO en la sepsis, la mayor parte de los órganos y sistemas están sometidos, de esta manera, a una provisión de energía limitada y a una señalización intracelular patológica que conduce a un aumento de la degradación de proteínas modificadas, una pobre renovación celular y apoptosis, bases celulares de la falla multiorgánica (4).

La nitración de las proteínas circulantes en los pacientes sépticos refleja la magnitud del proceso y se correlaciona con la condición clínica y el deterioro orgánico.

De alguna manera, la falla mitocondrial en la sepsis se asemeja a desórdenes genéticos mitocondriales. En ambos grupos, se afectan varios órganos y tejidos, indicando un mecanismo patogénico básico común cuyos elementos constitutivos no están aún completamente dilucidados.

## Referencias bibliográficas

1. Boczkowski J, Lisdero C, Lanone S, Carreras MC, Boveris A, Aubier M, *et al.* JJ. Endogenous peroxynitrite mediates mitochondrial dysfunction in rat diaphragm during endotoxemia. *FASEB J* 1999; 13: 1637-46.
2. Poderoso JJ, Carreras MC, Lisdero CL, Riobó NA, Schöpfer F, Boveris A. Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondria and submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys.* 1996; 328: 85-92.
3. Carreras MC, Franco MC, Peralta JG, Poderoso JJ. Nitric oxide, complex I, and the modulation of mitochondrial reactive species in biology and disease. *Mol Asp Med* 2004; 25 (1-2): 125-39.
4. Boveris A, Carreras MC, Poderoso JJ. The regulation of cell energetics and mitochondrial signaling by nitric oxide. En "Nitric Oxide Biology and Pathobiology". LJ. Ignarro ed, 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2010. p. 441-82.

## Actividad del grupo de Salud Sexual y Reproductiva

Director: Ramón A. de Torres<sup>1</sup>

1. Dr. en Farmacia y Bioquímica, Profesor Emérito UBA. Investigador Principal de CONICET

Lugar de Trabajo: INFIBIOQ-UBA y Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

E-mail: detorres@ffybio.uba.ar

Este grupo de trabajo se vio potenciado científicamente y operativamente con su incorporación al INFIBIOQ, en el momento de su fundación. Se trabaja en el área de Optimización de la atención primaria de la mujer en edad fértil, con especial foco en gestantes, integrando una relación con proyectos de investigación y actividades vinculadas con la Atención Primaria de la Salud.

a. Proyecto de investigación en factores asociados al parto pretérmino. Subsidiado por UBACYT (2008-2010 B049: Evaluación de factores de la respuesta inflamatoria como predictores de problemas gestacionales y parto)

Es importante el impacto que el desarrollo de este proyecto ha generado en un hospital de la importancia del Hospital Paroissien en la optimización vinculada al seguimiento y prevención de problemas gestacionales,

sobre todo el problema del parto pretérmino. Integra el grupo de trabajo la División de Tracto Genital Inferior del Hospital de Clínicas José de San Martín, UBA y la modalidad de estudio es transferida gradualmente a los hospitales Posadas y Eva Perón.

El objetivo es seleccionar metodologías que realmente tengan valor costo/ beneficio en la predicción y manejo del parto prematuro y transferirlas a la atención primaria. Se ha avanzado en el establecimiento de la importancia del estudio morfológico del Contenido Vaginal, detección del estado inflamatorio del contenido vaginal y problemas gestacionales.

b. Proyecto de Investigación sobre aspectos biodinámicos en la ecología vaginal en la disfunción vaginal primaria (Vaginosis Bacteriana).

Con participación de becarios de la Universidad de Buenos Aires, se desarrolla un proyecto de estudio de la relación de adhesión, formación de biopelículas y receptores en células epiteliales vaginales, con respecto a especies bacterianas asociadas a vaginosis bacteriana.

c. Proyecto de normatización del diagnóstico de Disfunción Vaginal

Asociado al programa de Salud Sexual y Reproductiva (PROSAR) de la Fundación Bioquímica Argentina ([www.fba.org.ar](http://www.fba.org.ar) [prosar]) se desarrolla un proyecto conjunto con la Federación Argentina de Sociedades de Ginecología y Obstetricia (FASGO) y otras Instituciones a los efectos de normatizar la atención primaria de la mujer en edad fértil. Se han publicado guías en los años 2008 y 2009 (1) (2)

Copia de la Guía Práctica (Vaginosis/Vaginitis) Se puede obtener sin cargo de [www.fba.org.ar](http://www.fba.org.ar) (BACOVA y Prosar consensos), [www.fasgo.org.ar](http://www.fasgo.org.ar) consensos.

d. Proyecto de transferencia de metodología al sistema de atención primaria de la mujer en edad fértil

También asociado a la Fundación Bioquímica Argentina (PROSAR), se desarrolla un programa de transferencia de metodologías a los profesionales biomédicos. Es prioridad la promoción de las recomendaciones de la Guía Práctica antes mencionada. Se desarrolla en base al sistema de aprendizaje entre pares y se crean agencias regionales, que multiplican la realización de talleres participativos, en los que se garantiza el trabajo personal del participante, vinculado directamente a la atención primaria de la mujer en edad fértil. El resultado de este trabajo se traduce en la actualización anual del Manual de Procedimientos de Balance del Contenido Vaginal (BACOVA)

El Manual de Procedimientos Balance del Contenido Vaginal. BACOVA.2010. [www.fba.org.ar](http://www.fba.org.ar) PROSAR

consensos se publica en este número de *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*.

Como resultado del trabajo de un número significativo de bioquímicos de todas las regiones sanitarias del país, se ha construido un mapa epidemiológico de la disfunción vaginal, aplicando todos una misma metodología, con el más alto valor predictivo (3). Estos resultados han sido presentados en Congresos de la Especialidad, tanto en el ámbito bioquímico como de las instituciones médicas. Copias de estos resultados se encuentran en la página de internet de PROSAR o pueden ser solicitados: prosar@fba.org.ar

## Referencias bibliográficas

1. Guía Práctica Integral (Clínica-Laboratorio) de diagnóstico de vaginosis-vaginitis en la atención primaria de la (MEF). Actualización 2010. Opciones en Ginecología y Obstetricia 2009; 10 (3): 109-27 (Número editado en junio de 2010).
2. Guía Práctica Integral (Clínica-Laboratorio) de Diagnóstico de vaginosis-vaginitis en la atención primaria de la (MEF). FASGO CIENCIA INFORMA 2008; 71 (1); 43-51.
3. Perazzi BE, Menghi CI, Coppolillo EF, Gatta C, Eliseth MC, de Torres RA, *et al.* Prevalence and comparison of diagnostic methods for *Trichomonas vaginalis* infection in pregnant women in Argentina. Korean J Parasitol 2010; 48 (1): 61-5.

# Mieloma múltiple. Aporte del laboratorio al diagnóstico y evolución post-trasplante de médula ósea

Marco A Pizzolato<sup>1\*</sup>

1. Dr. en Bioquímica  
E-mail: mapizzolato@hotmail.com.ar

\* INFIBIOC- UBA y Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Hospital de Clínicas. "José de San Martín". UBA.

El Mieloma Múltiple (MM) es una neoplasia de células plasmáticas que infiltra fundamentalmente médula ósea y que ejerce su efecto deletéreo sobre el sistema óseo, provocando lesiones de tipo lítico que resultan características de esta enfermedad.

El principal aporte que brinda el Laboratorio Bioquímico para su diagnóstico radica en la detección de una Inmunoglobulina Monoclonal, denominada genéricamente como componente "M" (CM), que se encuentra prácticamente en el 100% de estos pacientes en sangre y/o en orina. Suelen presentar además anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal y proteinuria.

El MM constituye el 1% del total de los cánceres y alrededor del 10% de las hemopatías malignas, siendo el segundo en frecuencia después del Linfoma no-Hodgkin.

El CM fue el primer marcador tumoral específico con el que se demostró una relación directa entre la concentración del mismo, producido por el tumor, y la masa celular mielomatosa. Este CM es estructuralmente una inmunoglobulina de origen monoclonal, generalmente tetrapeptídica, con dos cadenas pesadas y dos livianas, aunque puede estar constituido por fragmentos de las mismas.

La importancia de los estudios de Laboratorio no se limita solamente al aspecto diagnóstico, ya que resultan además de fundamental importancia en la evaluación de la respuesta al tratamiento, para estimar remisión y recaída de la enfermedad.

Dentro de las distintas estrategias terapéuticas empleadas a lo largo del tiempo, una de las que ha demostrado mayor tiempo de sobrevida, y de calidad de vida para el paciente, es el Trasplante Autólogo de células progenitoras de médula ósea (TAMO) (1).

Comparando terapia convencional y TAMO en pacientes con MM de reciente diagnóstico en primera línea, pudo demostrarse en todos los trabajos un significativo incremento en términos de remisiones completas, remisiones parciales, sobrevida libre de enfermedad y tiempo de sobrevida global en aquellos que habían recibido TAMO.

Se han establecido distintos criterios para la estadificación clínica de estos pacientes tales como la concentración del CM, el isotipo inmunológico, el grado de anemia el valor de la proteinuria y la presencia de Bence Jones. Últimamente un estudio multicéntrico basó el cuadro para establecer estadios en la concentración sérica de la Albúmina y de la Beta 2 microglobulina. Los niveles de IL-6 serían una expresión indirecta del grado de apoptosis de las células del mieloma y de la resistencia a la quimioterapia. Mediante técnicas de hibridación in situ (FISH), se ha sugerido que la delección del cromosoma 13 y las traslocaciones más comunes t(4;14), t(11;14), y t(14;16) impactan negativamente en el tiempo de sobrevida. El cambio en la concentración del CM es el criterio de respuesta más importante en el MM y constituye la base del seguimiento de la enfermedad. La remisión completa (RC) post-TAMO requiere la desaparición del CM por inmunofijación (IF) y una proporción normal de células plasmáticas (CP) en médula ósea.

En los últimos tiempos se describió una nueva metodología para la cuantificación de Cadenas Livianas Libres (FLC) séricas con una especial indicación como factor

pronóstico en MM “no secretor” y en la Amiloidosis AL.

El aporte del Laboratorio resulta de fundamental importancia, no sólo para el adecuado diagnóstico, sino además para establecer grado de respuesta y evolución, y en la permanente búsqueda de nuevos parámetros de utilidad en el control de los pacientes con MM, en especial post TAMO.

## Referencias bibliográficas

1. Alejandro ME, Madalena LB, Pavlovsky MA, Facio ML, Corrado C, Milone G, *et al.* Oligoclonal bands and immunoglobulin isotype switch during monitoring of patients with multiple myeloma and autologous hematopoietic cell transplantation: a 16-year experience. *Clin Chem Lab Med* 2010;4 8 (5): 727-31.

## Grupo de Hematología Aplicada

Alberto Lazarowski<sup>1</sup>, Mabel Lardo<sup>2</sup>,  
Amalia Merelli<sup>2</sup>, Claudia Carbia<sup>3</sup>, Guillermo Rabossi<sup>4</sup>, Natalia Borda<sup>5</sup>, Eduardo Lazarowski<sup>6</sup>

1. Dr. en Bioquímica UBA.
2. Especialista en Bioquímica Clínica Area -Hematología-FFyB-UBA (Tesis de Doctorado).
3. Bioquímico. UBA.
4. Bioquímico. UBA Becario Maestría "IBMS".
5. Estudiante.
6. Dr. en Bioquímica UBA (EE.UU.).

Autor responsable. E-mail: alberto\_lazarowski@med.unc.edu

Se presentan las líneas de trabajo de investigación del grupo y en cada línea figuran los integrantes de INFIBIOC antes mencionados y sus colaboradores

Lugar de Trabajo: INFIBIOC-UBA y Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

### 1 - Rol de nucleótidos de purina, particularmente UDP-Glucosa, en la activación funcional de los PMN neutrófilos, y eventualmente si juega algún rol en el proceso de diferenciación de las células progenitoras hematopoyéticas

Grupo de Investigación: Guillermo Rabossi, Natalia Borda, Claudio Carbia, Amalia Merelli, Alberto Lazarowski. Hematología, INFIBIOC-FFyB-UBA.

El objetivo del presente proyecto es investigar el papel de distintos nucleótidos purinérgicos sobre la activación y función de polimorfonucleares neutrófilos, particularmente sobre el recientemente descubierto receptor P2Y14 que es activado selectivamente por UDP-Glucosa (UDP-G) pero no por otros nucleótidos purinérgicos. Uno de los colaboradores de este grupo, el Dr. Eduardo Lazarowski, de la Universidad de Carolina del Norte at Chapel Hill (EE.UU.), ha detectado la persistente liberación de UDP-G por las células *globet* pulmonares productoras de mucina y niveles de hasta 500 nM de UDP-G en muestras de esputo de pacientes con enfermedad fibroquística pulmonar, sugiriendo que dichas células pulmonares serían la fuente de secreción activa de UDPG en las vías respiratorias. A su vez, también pudo confirmar la alta carga de ARNm del P2Y14R en PMN. Consecuentemente, la UDPG podría desempeñar un rol en el reclutamiento de PMN a nivel pulmonar asociado a la inflamación de la enfermedad fibroquística. En base a estas consideraciones, este grupo ha sido el primero en mostrar activación quimiotáctica de PMN por estimulación con UDPG añadida en el medio extracelular *in vitro*. Sin embargo, las vías de señalización intracelular en PMN, consecutivas a su activación por UDPG siguen siendo inciertas con muy escaso aporte para su esclarecimiento en la literatura internacional. Se debe remarcar también que la progresiva diferenciación celular de la progenie mielóide desde célula progenitora hasta PMN muestra cambios citomorfológicos y funcionales muy importantes. Si bien se ha descrito la presencia de receptores GPR105 (P2Y14) en células *stem* hematopoyéticas se desconoce aún cuál sería el rol de estos nucleótidos, particularmente la UDPG en dicho proceso madurativo.

Este grupo realizó las primeras pruebas de quimiotaxis de PMNs con cámara de Boyden modificadas en presencia de UDPG, con los primeros resultados positivos (EC50  $\cong$  90 nM). El valor EC50 de la quimiotaxis en PMNs promovida por UDPG es consistente con la activación del P2Y14-R, medida como clivaje de inositol fosfatos inducida por UDPG en células COS-7 que expresan el P2Y14-R recombinante.

También se pudo observar que concentraciones de UDPG (300-400 nM) similares a las detectadas en mucus de pacientes con fibrosis quística, promueven una importante activación del P2Y14-R y quimiotaxis de PMNs. (Los estudios se realizan con un Subsidio UBACyT 2009-2010 y el apoyo del Dr. Eduardo Lazarowski de UNC-Chapel Hill, NC; EE.UU.)

## Referencias bibliográficas

- Harden TK, Sesma JI, Fricks IP, Lazarowski ER. Signalling and pharmacological properties of the P2Y receptor. *Acta Physiol (Oxf)*. 2010; 199 (2): 149-60.

- Carbia C, Caldirola S, Rabossi G, Pitchel M, Merelli A, Lazarowski A, Lazarowski E. Actividad de la UDP-Glucosa en los neutrófilos humanos. LII<sup>o</sup> Reunión Anual de SAIC. Medicina 2008; 68 (Supl. II):210-1.
- Byeong-Chel L, Cheng T, Adams GB, Attar EC, Nobuyuki M. P2Y-like receptor, GPR105 (P2Y14), identifies and mediates chemotaxis of bone-marrowhematopoietic stem cells. Genes Dev 2003; 17: 1592-604.

## 2- Importancia del Estudio Farmacogenómico del Gen MDR-1 en la resistencia múltiple a drogas en el tratamiento de la Leucemia Mieloide Crónica

Grupo de Investigación: Mabel M. Lardo, María T. Cuello, Patricia M. Gargallo, Michele Bianchini, Sandra Camarero, Graciela Lucero, Benjamín Koziner, Irene B. Larripa, Alberto J. Lazarowski.

\* Premio: Mejor Trabajo en Hematología Básica. XVII Cong. Arg de Hematología. Sociedad Argentina de Hematología (SAH) Córdoba, 2005.

La resistencia celular a drogas anti-neoplásicas representa el mayor problema en oncología clínica y está asociado, entre otros factores, a la expresión y actividad de una familia de proteínas de membrana conocidos como ABC-transportadores (*ATP-Binding-Cassette*), debido a que su actividad es dependiente de la hidrólisis de ATP. El más importante de los transportadores estudiados relacionados a un fenotipo de resistencia en varios tumores sólidos y en leucemias, es la glicoproteína-P (P-gp) codificada por el gen MDR-1. La Leucemia Mieloide Crónica (LMC) es una enfermedad mieloproliferativa originada en la *Stem Cell* Hematopoyética (SCH) caracterizada por un marcador molecular originado por la fusión de dos genes, denominado BCR-ABL. Dentro de los tratamientos de elección se encuentra un inhibidor de Tirosin Kinasa (TK), el Imatinib. Un porcentaje significativo de pacientes con LMC presentan recaída de la enfermedad asociada a resistencia a drogas. La importancia de estudiar en un modelo biológico de LMC en progresión (K562) los niveles de expresión de genes relacionados con el transporte de drogas hacia el exterior celular, tales como el MDR1 y el BCRP, fue el principal objetivo de este grupo para entender así los mecanismos de resistencia al tratamiento. Dentro de los resultados obtenidos hasta el momento se han podido establecer al igual que otros grupos de trabajo, una correlación entre el nivel de expresión del gen MDR-1 y el grado de sensibilidad/resistencia al tratamiento con Imatinib en el modelo *wild tipe* de la Línea celular K562. Se logró demostrar una alta expresión de las proteínas P-gp y BCRP por métodos inmunocitoquímicos y comprobar el grado de funcionalidad de las mismas con un sustrato de la bomba como la Rho-123. Se verificó que

el tratamiento con inhibidores específicos de la Pg-p, tales como ciclosporina, o inhibidores de *mTOR* (*rapamicina*), mejoraban el grado de sensibilización de las células resistentes permitiendo esto plantear nuevas estrategias de tratamiento. Con este futuro prometedor nos proponemos dirigir la investigación hacia los cambios polimórficos en el gen MDR-1, dado que podrían tener un impacto fármaco-genómico sobre los factores de pronóstico y la supervivencia de los pacientes con Leucemia Mieloide Crónica que son tratados con Imatinib.

## Referencias bibliográficas

- Lardo M, Lazarowski A, Cuello MT, Gallardo P, Bianchini M, Larripa I. Gen MDR-1 y resistencia al imatinib en células K562. Hematología 2007; 11, 1: 14-9.
- Dulucq S, Bouchet S, Turcq B, Lippert E, Etienne G, Reiffers J *et al.* Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. Blood 2008; 112: 2024-7.

## 3- Efectos de la Epo recombinante humana sobre la actividad motora espontánea en ratas sometidas a hipoxia cerebral focal por inyección cortical de Cl<sub>2</sub>Co

Grupo de Investigación Amalia Merelli<sup>1</sup>, Laura Caltana<sup>2</sup>, Javier Ramos<sup>2</sup>, Alicia Brusco<sup>2</sup> y Alberto Lazarowski<sup>1</sup> (1. Hematología-INFI-BIOC-FFyB-UBA; 2. IBCN-Fac. de Medicina-UBA-CONICET)

- \* Premio: "Dr. Alfredo Macchi", XVIII Congreso Argentino de Hematología. Sociedad Argentina de Hematología: Salta, 26 de Octubre, 2007.
- \* Selected Presentation. Neuroscience (SfN) Washington DC - Noviembre 2008.

El presente estudio tiene por objetivo la caracterización del daño provocado por la inyección directa a nivel cortical (cerebral) del hipoxiante químico Cl<sub>2</sub>Co, y el potencial uso terapéutico (neuroprotector) de eritropoyetina recombinante humana (rHu-Epo) en dicho modelo. La característica más sobresaliente de este modelo es que el Cl<sub>2</sub>Co permite un uso controlado de la dosis y la administración del mismo en una región cerebral definida y de interés específico que en nuestro caso es un área de compromiso motor. El Cl<sub>2</sub>Co a bajas dosis (50mM), ha mostrado producir lesiones compatibles con las observadas en otros modelos de hipoxia cerebral focal, y documentadas por diferentes metodologías (TTC; Hoesch, Tunnel) y microscopía electrónica. La respuesta de los diferentes tipos celulares cerebrales, mostró una importante activación del factor de transcripción HIF1- $\alpha$ , que perduró en el tiempo



(5 días post insulto hipóxico), y se asoció a la producción y coexpresión del receptor de eritropoyetina (Epo-R) y de la glicoproteína P-gp, producto del gen de resistencia múltiple a drogas MDR-1.

La administración intraperitoneal de rHu-Epo a ratas controles no hipóxicas, produjo un incremento en los reticulocitos circulantes, indicando una acción interespecie positiva. En este contexto, la actividad motora espontánea (AME) medida por las pruebas de Open Field y Rotarod, mostró un decaimiento progresivo en las ratas sometidas a la hipoxia focal, en tanto, las ratas sometidas a la misma hipoxia pero tratadas con rHu-Epo administradas por vía intranasal, mostraron una AME con valores persistentemente idénticos a los basales preinjurias, sin incremento de los reticulocitos circulantes. Este hecho valida la utilización de la rHu-Epo por vía intranasal sin riesgo de efectos eritropoyéticos periféricos, pero funcionalmente activa ante la presencia de alta expresión del Epo-R y a pesar de la concomitante alta expresión de la glicoproteína P-gp en los mismos tipos celulares cerebrales.

## Referencias bibliográficas

- Lazarowski A, Caltana L, Merelli A, Rubio MD, Ramos AJ, Brusco A. Neuronal mdr-1 gene expression after experimental focal hypoxia: a new obstacle for neuroprotection? *J Neurol Sci* 2007; 258 (1-2): 84-92.
- Caltana L, Merelli A, Lazarowski A, Brusco A. Neuronal and glial alterations due to focal cortical hypoxia induced by direct cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>) brain injection. *Neurotox Res* 2009; 15 (4): 348-58.

# Transferencia de la evolución del conocimiento de la virología a la atención primaria en la Argentina

Celia E. Coto<sup>1</sup>, Ramón A. de Torres<sup>2</sup>

1. Dra. en Ciencias Químicas. Profesora titular consulta. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.

2. Dr. en Farmacia y Bioquímica. Profesor titular emérito. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

E-mail: virocoto@qb.fcen.uba.ar

*“Los progresos de la medicina podrán considerarse verdaderos logros para la humanidad cuando todas las personas tengan acceso a sus beneficios y dejen de ser un privilegio para las minorías”. René FAVALORO*

## Introducción

Vamos a presentar un brevísimo ensayo crítico sobre cómo el avance logarítmico del conocimiento científico universal de la Virología fue utilizado en la Argentina para mejorar la prevención y atención primaria de la salud humana.

La información pública disponible nos exime de hacer una enumeración enciclopedista de los adelantos científicos de la Virología, concretados en los últimos cincuenta años. En cambio, hemos preferido contribuir a la discusión de cómo adecuar y asegurar la transferencia del adelanto científico universal a la optimización de los indicadores de salud de nuestro país, con costo beneficio positivo y no presionados por el *marketing* farmacéutico.

Inspirados en Favaloro, creemos en la necesidad de un programa orgánico, basado en una sólida decisión política estatal, para encarar la producción nacional de vacunas y reactivos diagnósticos, estrictamente necesarios y en cantidad suficiente para resolver problemas prioritarios de las patologías virales humanas.

Los registros del CONICET y del sistema de Acreditación del Ministerio de Educación, para el personal Universitario y personal hoy actuante en la Industria privada agropecuaria, demuestran que la masa crítica de virologos soporta con exceso el requerimiento de los recursos humanos que el programa requiere.

## 1900 a 1950: “Fuimos capaces”

En la primera mitad del siglo XX, se producían en la Argentina vacunas contra la viruela y la rabia. El resultado de un plan exitoso de su utilización, hace que nuestro país complete al mismo tiempo que los primeros países del mundo, la etapa de erradicación de viruela.

Ante un brote epidémico de viruela, la vacuna producida por el Instituto Nacional de Microbiología, fue utilizada en Inglaterra.

Desde hace varios años no hay casos de rabia humana y está ausente la rabia canina en el país. Ante el desinterés industrial (vacuna para humanos) el Estado lideró con éxito, con los altibajos lógicos, la solución integral (atención primaria y prevención) del problema de viruela y mantiene el control de rabia.

## Situación actual

En la segunda mitad del siglo XX, desde 1950 en adelante, el vertiginoso adelanto en la virología no fue absorbido por la dirigencia político/empresarial en el ámbito de la salud humana en la Argentina.

Por el contrario, el desarrollo del recurso humano en Virología en el marco académico integral, creció, aportó y sigue aportando a la ciencia. No intentamos ahora dis-

cutir causalidad, pero sí dejar establecido que el estado gravísimo de dependencia en la producción de vacunas y reactivos diagnósticos de enfermedades virales, se debe a la falta de decisiones y desorden político, pero de ninguna manera a un déficit de recursos humanos y de posibilidad de financiamiento.

## Factor concluyente en la toma de decisiones

Toda patología debe analizarse para tomar decisiones, en función de su dimensión, repercusión social y vulnerabilidad a los conocimientos científicos que disponemos para su diagnóstico, tratamiento y prevención. Es muy difícil lograr un equilibrio global de la inversión en salud para todas las enfermedades virales. La repercusión social tiene una importancia sustancial, en cuanto es la que mueve las decisiones políticas.

## El diagnóstico de infecciones virales hasta 1975

En salud humana hasta 1975, con excepción de la rabia (con cobertura regional pero siempre en instituciones especializadas), el diagnóstico de infecciones virales humanas estuvo confinado a proyectos de investigación puntuales y vigilancia epidemiológica, en el Instituto Nacional de Microbiología, el Instituto de Virología de Córdoba (creado en 1958) y la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UBA.

El trabajo de esta última unidad con colaboración de otros grupos definió científicamente la Fiebre Hemorrágica Argentina, llegando al desarrollo de una vacuna preventiva. El intento de la producción nacional de la vacuna ha tomado un largo tiempo, que nunca dependió de problemas de recurso humano, ni de inversiones, sino de la inestabilidad de las decisiones políticas.

## “Somos capaces”

A partir de marzo de 2007, la candid 1, producida en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas (ANLIS .INEVH), ciudad de Pergamino, Buenos Aires, ha sido aprobada por el ANMAT, para proteger contra la Fiebre Hemorrágica Argentina e incorporada al Programa Nacional de Inmunizaciones.

El Instituto Biológico de La Plata desarrolla una actividad continua y eficiente en el ámbito del diagnóstico y producción de vacuna antirrábica.

Una empresa privada en la Argentina, produce una vacuna contra Hepatitis B, con modernas tecnologías aprobada por ANMAT.

## La inmunología, la repercusión social y la economía, permiten la primera transferencia del diagnóstico virológico a la Atención Primaria

La metodología fundacional de la Virología, aislamiento de virus en animales de laboratorio y cultivos celulares y la microscopía electrónica, limitaron y limitan su aplicación a la atención primaria.

El primer gran impacto de transferencia de la investigación virológica al diagnóstico asistencial con cobertura social posible, fue el diagnóstico de Hepatitis B. La metodología, por primera vez, era practicable en hospitales y laboratorios periféricos. En 1978 el INOS incorporó al nomenclador Bioquímico, las metodologías de diagnóstico de Hepatitis B.

En los comienzos, inmunodifusión, contra inmunoelectroforesis y radioinmunoensayo, con sus diferencias de valor predictivo y costos, mostraron ser efectivas en diagnosticar humanos infectados. La Hepatitis B nunca tuvo repercusión social *per se*, pero la posibilidad de reducir la transmisión de la enfermedad al transfundir sangre generó una necesidad ética, rápidamente absorbida por la sociedad, y el control en el banco de sangre fue y es una decisión política ineludible.

El patentamiento de procesos y la producción industrial se vio asegurada. En nuestro país se deben controlar no menos de 750.000 donantes anualmente.

## No hay ningún diagnóstico imposible en la virología actual

La inmunología genera la eficiencia y *miniaturización* necesaria para ayudar a la humanidad frente a un problema como el que plantean aún hoy las hepatitis virales.

A partir de 1981 se genera un problema epidemiológicamente similar al de Hepatitis B, con la generalización de la infección por HIV, con la mayor repercusión social en toda la historia de la Medicina.

El conocimiento virológico actual es suficiente para ofrecer diagnóstico de laboratorio eficiente para todas las enfermedades virales conocidas y en especial para la infección con HIV .

Lo que define su transferencia a la atención primaria es cuando en realidad el diagnóstico define la toma de decisiones inmediatas de tratamiento (si lo hay, real con-

cepto de atención primaria de la salud) o por riesgos epidemiológicos.

Los casos de influenza y dengue han quedado suficientemente claros en virtud de los episodios del año 2009: lo que se requiere es la identificación epidemiológica del agente circulante, pero no necesariamente el diagnóstico individual.

Se encuentra en plena discusión el verdadero costo beneficio del diagnóstico preventivo de la infección por HPV y/o la inmunización por vacunas, presionado por el *marketing* industrial. En este caso puntual lo que debe asegurarse en forma prioritaria, que es lo expresado por el Ministerio de Salud de la Nación, es la cobertura de los estudios citológicos a todas las mujeres.

La base de la detección de antígenos y/o anticuerpos utilizando infinitas variables operativas, asegura la disponibilidad de diagnóstico de todas las enfermedades virales.

En la actualidad, antígenos altamente específicos se pueden producir por biosíntesis mediante clonado. La producción de anticuerpos monoclonales permite la detección de antígenos virales con un alto grado de sensibilidad y especificidad.

El perfeccionamiento y la miniaturización de la detección de la reacción específica antígeno/anticuerpo transferible a la atención primaria, han variado desde la inmunodifusión, fijación de complemento, inmunofluorescencia, enzimoimmunoensayo, radioimmunoensayo, quimioluminiscencia entre las metodologías de mayor aplicación, en distintos soportes, culminando con procesos totalmente automatizados.

La detección de anticuerpos es de gran valor predictivo para demostrar infección, pero en general requiere del transcurso de un tiempo de evolución, que se cumple luego de superado el período agudo. Por eso no es tan útil para el diagnóstico de primoinfecciones y es muchas veces complicado en la interpretación de recurrencias en patologías crónicas.

La detección de antígenos por vía inmunológica está vigente, pero se ve en muchos casos superada en sensibilidad y especificidad, por la amplificación génica, en cuanto a detectar la presencia de virus y/o fracciones moleculares del mismo.

## La amplificación génica conmueve el futuro del diagnóstico virológico en la Atención Primaria

En los últimos años las ciencias biológicas han sido conmovidas por el desarrollo de estudios de secuenciación, identificación y amplificación biológica de genes.

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) es la denominación popular de un proceso complejísimo sobre el que hoy ya existen numerosas variables. Permite identificar genes virales, presentes en formas biológicas muy distintas.

Como ser: integrando una partícula viral entera, presencia del ácido nucleico viral "entero" sin existencia de partículas, pedazos del genoma, "suelos" o integrados a cromosomas celulares.

La amplificación génica es una metodología que no refiere al perfeccionamiento de otra ya existente (como ocurre con la inmunología), ni que el agente sea capaz de infectar un nuevo huésped, es un nuevo principio filosófico de la identificación de virus. Como hemos planteado antes "dice que hay nada más que de un pedazo de un gen de un virus".

No es parte de una especialidad clásica y pone en una sola bolsa la detección de "genes", cualquiera sea su origen.

Hoy la vigencia de las patentes, que protegen la rentabilidad sobre los costos de desarrollo, de los reactivos disponibles en el mercado, hacen que estas determinaciones tengan altos costos.

## La realidad futura es otra

PCR ha venido para quedarse por la tremenda capacidad de información que genera, con la más alta eficiencia en la detección de genes virales.

Es la apología de la miniaturización. Un gran número de muestras, en el que se pueden estudiar simultáneamente un número importante de distintos virus, se resuelve en horas. Esto en un espacio adaptable a cualquier institución asistencial, atendido por un personal reducido y en condiciones de bioseguridad fácilmente controlables, en relación al laboratorio donde se efectúan aislamientos de virus. Evita el uso de cientos de tubos, placas, litros de medios de cultivos, estufas, animales de laboratorio, reciclamientos de descontaminación y personal especializado en diferentes áreas. En gran parte, los sistemas actuales tienen un grado de automatización avanzado.

Entre muchos avances realmente significativos de la Amplificación Génica, de aplicación directa en la atención primaria, es la posibilidad de medir la llamada **carga viral**, que informa al clínico la evolución de la cantidad de virus que se produce en el paciente en enfermedades crónicas como VIH, pero es extensible a otras patologías.

Hay un solo problema que empalidece este panorama de optimismo... vamos a pasar mucho tiempo hasta que podamos interpretar todos los resultados y aplicarlos a un mejor manejo clínico de nuestros pacientes en atención primaria de la salud.

Los equipos requeridos, sobre todo los de avanzada (PCR en tiempo real) aún tienen precios importantes, en los que se cargan los costos de desarrollo y que van a estabilizarse a corto plazo, pero aun así, con las ventajas operativas que ofrece su utilización, son rápidamente amortizables.

En cuanto a la producción de reactivos para el desarrollo de PCR en nuestro país ya se producen todos los

reactivos básicos para el desarrollo de pruebas de la llamada PCR casera.

## Conocimiento científico y producción

Queda claro entonces que el desarrollo del conocimiento científico (hoy abrumador), permite disponer, de un medio diagnóstico útil (aplicable en atención primaria) para prácticamente todas las enfermedades virales humanas conocidas.

La posibilidad de su aplicación con equidad social depende de la producción del sistema diagnóstico en calidad, cantidad, continuidad y **racionalidad económica**, para lograr **la cobertura a todo habitante del país que clínicamente lo requiera**.

Lo que hay que establecer es: en qué casos el diagnóstico de la etiología viral específica, modifica positivamente la evolución del paciente de forma de hacerlo éticamente necesario.

Establecer que en los casos de real necesidad, ésta debe estar asegurada a todo habitante del país.

Si no hay cobertura... es como dijo el Profesor Dr. René Favaloro, no es un logro útil.

## Producción de vacunas y reactivos biológicos en la Argentina

No es nuestra especialidad la economía. Pero es elemental que hay dos sistemas polares en salud, según como esté basado y se inicie el algoritmo de ejecución: *Solidaridad y Rentabilidad*.

El nuestro es fragmentado en tres: Solidario. Sector Público, los Argentinos pagan impuestos y el Estado provee salud a 22 millones de habitantes, los trabajadores de la salud cobran un sueldo digno.

Hay otro grupo solidario, el de las Obras Sociales, Estatales y Sindicales, (17 millones de habitantes) en las que además de los impuestos, los individuos pagan una mensualidad, que la organización utiliza **en su totalidad** para brindar salud. El otro sector es el Privado y Prepagas. Este último no es solidario, los beneficiarios pagan impuestos y una cuota mensual a la institución. Esta presta salud de acuerdo con contratos preestablecidos, pero no menos del 35% de total va a cuentas personales de un grupo reducido de "dueños".

En este grupo se establece el concepto de que prestar salud es una empresa rentable.

Los indicadores de la Organización Mundial de la Salud muestran que los países líderes desarrollan programas solidarios en los que el Estado asegura a la población la asistencia y prevención de la salud. Los estados en los que la actividad de los centros de Salud ofrecen acciones que se cotizan en la bolsa, tienen un porcentaje de no menos del 20% de la población sin ninguna atención médica.

La producción de vacunas y reactivos biológicos para enfermedades virales, para satisfacer racionalmente un país como la Argentina, no depende solamente de una masa crítica científica y técnica, que sí se dispone, sino de una decisión política de ponerla en el sistema solidario de producción nacional o mantenerla dependiente del sistema rentable.

## De qué depende entonces la atención primaria en Virología

Alrededor del año 1970 se creó la Sociedad Argentina de Virología. Los resultados de los Congresos de la Sociedad Argentina de Virología y las publicaciones Argentinas (Nacionales e Internacionales) muestran un nivel de excelencia humana en calidad y cantidad. Esto garantiza la base de la organización de un sistema de producción nacional de vacunas, productos biológicos y medicamentos.

La cobertura de las infecciones virales debe comenzar con una inmediata actualización de las Guías de Procedimientos, estableciendo el uso racional del diagnóstico virológico en los problemas de atención primaria de enfermedades agudas. Garantizando su utilización sólo en aquellos casos en que ese diagnóstico genera una mejora (costo beneficio positivo) de la calidad de vida del paciente.

Diferenciar claramente de los procedimientos asociados a detección y calificación de brotes epidémicos, responsabilidad absoluta en manos de las redes estatales.

De la atención de problemas de salud de gran complejidad como trasplantes y diagnóstico y seguimiento de enfermedades crónicas, como hepatitis virales y VIH. De hecho, el control de bancos de sangre.

Este tema viene siendo discutido en el Grupo de Gestión de Políticas de Estado en Ciencia y Tecnología ([www.saic.org.ar](http://www.saic.org.ar), [www.grupogestionpoliticas.blogspot.com](http://www.grupogestionpoliticas.blogspot.com) y para comunicarse [grupogestion1@yahoo.com.ar](mailto:grupogestion1@yahoo.com.ar)). También existen organizaciones que seriamente están trabajando con estas ideas y esto requiere de una amplia difusión y del apoyo crítico participativo de toda la comunidad biomédica Argentina.

El pasado ejemplo de la pandemia de H1N1 del 2009 muestra que la presión de la industria sobre las autoridades políticas y las organizaciones nacionales e internacionales de salud, opaca seriamente la validez de las decisiones que se toman.

La falta de una sólida organización nacional sin conflictos de intereses, que garantice concretar una actualización epidemiológica, que asegure la programación de la producción de insumos realmente necesarios y eficientes, lleva a costos de cifras cuantiosas, irracionales e inútiles.

# Bioquímica y biología de galectinas

Nilda Ester Fink<sup>1</sup>, Mariana Marta González<sup>2</sup>

1. Dra. de la UNLP

2. Magister en Ciencias del Laboratorio Clínico

Lugar de trabajo: INFIBIOC-UBA. Área Bioquímica Clínica, Departamento de Ciencias Biológicas y Maestría en Ciencias del Laboratorio Clínico, Facultad de Ciencias Exactas- UNLP

E.mail: fink@biol.unlp.edu.ar

Las lectinas son proteínas que tienen la capacidad de unir hidratos de carbono, monosacáridos u oligosacáridos simples. Pueden ser de origen vegetal y animal, habiéndose clasificado a estas últimas en cinco familias, de acuerdo con su estructura primaria (1), a saber: lectinas tipo C, lectinas tipo I, lectinas tipo P, pentraxinas; y galectinas.

Las galectinas constituyen una familia de proteínas que ligan hidratos de carbono que previamente fueron conocidas como *lectinas de tipo S o S-Lac*. Constituyen una familia filogenéticamente conservada que contiene secuencias de aminoácidos características compartidas y dominios de reconocimiento a hidratos de carbono (CRD) (2). Todas las galectinas unen lactosa y otros oligosacáridos  $\beta$ -galactosídicos (3). Se han identificado 15 galectinas de mamíferos, siendo designadas como Gal-1 a Gal-15 (4) (5). Los CRD de todas las galectinas comparten afinidad por el ligando N-acetilactosamina- un disacárido común que se encuentra en muchas glicoproteínas celulares- aunque las galectinas individuales, también son capaces de reconocer modificaciones de este ligando, desarrollando múltiples especificidades (6). Se clasifican de acuerdo a su estructura bioquímica en (7): 1- Galectinas protipo: contienen un CRD, reconocen estructuras simples de hidratos de carbono disacáridos. Están incluidas dentro de este grupo, las galectinas 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14 y 15. Se encuentran como monómeros (galectinas 1, 5, 7, 10) o como homodímeros (galectinas 1, 2, 11, 13, 14, 15), 2- Galectinas tipo quimera: la galectina 3 es el único miembro de esta familia, contiene un CRD y un dominio no lectínico. 3- Galectinas en *tandem*: contienen dos CRD estructuralmente distintos conectados, permitiendo que interactúen con hidratos de carbono diferentes. Pertenecen a este grupo, las Galectinas 4, 6, 8, 9 y 12. Las galectinas se expresan en diferentes tipos celulares tanto en animales, en vertebrados mamíferos y no mamíferos e invertebrados y también se encuentran en plantas. Carecen de la secuencia señal secretoria, por lo tanto no siguen la ruta clásica de secreción R.E./aparato de Golgi, pero sin embargo, algunas galectinas se encuentran en el espacio extracelular o en la superficie celular. Esta externalización inusual, podría prevenir la asociación de la galectina con glicoconjugados que son procesados en las vesículas se-

cretorias normales (8). A través de estudios de localización de las galectinas se sabe que estas proteínas pueden secretarse en múltiples compartimentos celulares dependiendo del estatus celular (9) (10). La Gal-1 es un homodímero de subunidades de 14 kDa. Dado que las galectinas son una familia de proteínas filogenéticamente conservadas, la identidad entre dominios que ligan hidratos de carbono de distintas galectinas de una especie de mamífero es de 20-40 por ciento y la homología de la Gal-1 entre distintas especies es de 80-90 por ciento (2) (3).

En el marco de una línea de trabajo sobre bioquímica y biología de lectinas animales, nuestro proyecto de trabajo refiere particularmente a Galectina-1 de diferentes orígenes. Así, en trabajos previos se estudió Gal-1 en distintas especies, órganos y células (ovario de *Rhinella arenarum*, bazos de origen porcino, bovino y humano y en células de la sangre). Anteriormente se expusieron neutrófilos y porcinos a Gal-1 esplénica porcina, confirmando la presencia de receptores en superficie a través de la medida de activación y degranulación de los mismos (11). Durante estudios de IFI, hechos en paralelo, con PMN humanos (12), se observó que las plaquetas (PltH) contaminantes daban reacción positiva para la detección de Gal-1 endógena, hecho éste que motivó para iniciar estudios en PltH.

Recientemente se demostró que la Gal-1 esplénica porcina interacciona con plaquetas humanas en reposo y luego de la activación con trombina (Tr), comparable con resultados hallados con Gal-1 obtenidas de otras especies. En relación a nuestros estudios sobre la interacción de plaquetas humanas con Gal-1 exógena, se observó que la Gal-1 esplénica porcina interacciona con las PltH induciendo a agregación dependiente de la concentración de lectina. En particular en plaquetas, varios autores han demostrado que la Gal-1 de diferentes especies produce agregación en relación dosis-dependiente. Así, se evidenció dicho comportamiento utilizando Gal-1 bovina (13) y con Gal-1 recombinante humana (14). Se sabe que el receptor GPIIb/IIIa es un miembro de la familia de las integrinas, se encuentra en la superficie de plaquetas en reposo y, también en el interior de la plaqueta, principalmente en los gránulos  $\alpha$ , en los cuerpos densos y en las membranas que delimitan el sistema canalicular abierto; estos receptores son capaces de unirse a la membrana plasmática cuando las plaquetas son activadas y sufren la reacción de secreción (15, 16). Pacienza, *et al.* (14), demostraron que la interacción de la Gal-1 recombinante humana en plaquetas homólogas provoca cambios conformacionales en los receptores GPIIb/IIIa; dichos cambios favorecerían el fenómeno de activación. Además, se observó que, en plaquetas activadas con Tr, previo al agregado de Gal-1 esplénica porcina, el número de receptores detectados aumenta con respecto a las plaquetas incubadas únicamente con la misma concentración de lectina. Estos resultados coinciden con los datos informados previa-

mente, y sugieren que la activación plaquetaria previa con Tr, favorece sinérgicamente la interacción Gal-1/receptor de membrana plaquetaria.

No sólo se observa que Gal-1 *per se* activa PltH lavadas, en reposo, al igual que Tr, sino que hay un sinergismo entre ambas. Este efecto agonista podría deberse a la interacción de la Gal-1 con el complejo GPIIb/IIIa, ya que ambas moléculas interactúan con receptores de la familia de las integrinas. Dada la enorme variedad de ligandos con los que se une Gal-1 (17) no se puede descartar que otros receptores en común presentes en la PltH, puedan ser activados.

También fue de interés profundizar en las condiciones de interacción con Gal-1, por lo tanto, se aumentó el número de variables, tanto la concentración de la Gal-1 con la cual se incubaron las plaquetas en reposo y activadas, como el grado de activación plaquetaria. Los resultados de CF en plaquetas en reposo adicionadas con concentraciones crecientes de Gal-1, demuestran que la interacción lectina/receptor es concentración dependiente.

Se ha descrito una diversidad de comportamientos que suele caracterizar a la Gal-1, provocando bajo ciertas circunstancias, efectos estimulatorios o inhibitorios como la adhesividad o la anti-adhesividad, la proliferación o la inhibición de la proliferación. Dependiendo dicho comportamiento, del tipo de células, su estado de activación, expresión y estado de glicosilación de receptores en su superficie, de la proporción monómero-dímero de Gal-1 presente y de la distribución intra *vs.* extracelular. También se llevaron a cabo estudios para confirmar los hallazgos iniciales sobre la presencia de Gal-1 endógena en Pthl. Para evidenciar la expresión de Gal-1 endógena en superficie y detectar los receptores totales de Gal-1 en plaquetas humanas se realizaron ensayos mediante IFI y CF. Los resultados preliminares (18) (19), demostraron que existe expresión de Gal-1 endógena en plaquetas en reposo, tanto por IFI como por CF. En estudios de la proteómica plaquetaria, Martens L *et al.* (20), encontraron que Gal-1 es parte del proteoma plaquetario, considerándola como una proteína menor. Coincidente con estos datos, se estudiaron los perfiles de expresión génica de células megacariocíticas derivadas de CD34 normales y malignas de pacientes con TE (Trombocitemia Esencial), y encontraron que existe una desregularización de los genes proapoptóticos en los megacariocitos malignos, tales como BAX, BNIP3, BNIP3L y miembros del complejo PT mitocondrial (21). En el mismo estudio observaron una reducción en la expresión del gen LGALS1 (Gal-1), siendo este último un factor proapoptótico.

Con el objeto de profundizar en el conocimiento de Gal-1 y plaquetas, en nuestro laboratorio se realizaron experiencias focalizadas en diferentes objetivos que complementan trabajos previos. Así, datos preliminares fueron comunicados recientemente (22) sobre los cambios en la ultraestructura plaquetaria que provoca la interacción de Gal-1 esplénica porcina en PltH. Asi-

mismo, se observaron cambios característicos de activación plaquetaria drástica en las plaquetas activadas con Tr y adicionadas con una concentración fija de Gal-1 0.5  $\mu$ M. En base a estos resultados, coincidente con los resultados obtenidos, mencionados anteriormente, mediante inmunohistoquímica (18) y citometría de flujo (19), se concluyó que la interacción de Gal-1 con ligando/receptores, tipo integrinas u otros, sería la responsable de cambios morfológicos ultraestructurales relacionados con funciones como adhesión/agregación plaquetaria, aunque de las observaciones no fue posible establecer una relación dosis dependiente. La Gal-1 endógena de plaquetas cuya presencia se demostró (23) podría ejercer roles fisiológicos similares a la Gal-1 exógena porcina, mediante mecanismos autócrinos.

Otro objetivo propuesto fue el de purificar y caracterizar la Gal-1 endógena de plaquetas humanas, para lo cual se implementó un protocolo de purificación y posterior caracterización de la lectina, comunicado recientemente (24). Se demostró, procesando Gal-1 purificada a partir de plaquetas humanas, por HPLC-Masa, que se presenta como una proteína de 14kDa y también que forma un complejo con actina. Además se procedió a realizar una digestión enzimática con tripsina y el análisis de los péptidos obtenidos por HPLC, seguido de espectrometría de masa. Esto permitió detectar la presencia de Gal-1 (3 péptidos secuenciados; % de cobertura: 30,3) y actina (15 péptidos secuenciados; % de cobertura: 36,5), en coincidencia con los resultados del *western blot*. Esto es similar a hallazgos descritos para otras células, como LT, células de músculo y de cerebro humano (25-27), donde Gal-1 se une a la actina, probablemente formando parte de sistemas complejos que regulan la actividad de actina. Se amplían de esta manera los datos previos obtenidos en este laboratorio (23) y se demuestra que la Gal-1 es una proteína que está en menor proporción en plaquetas, en coincidencia con los estudios de proteómica, hechos por otros autores, que no la incluyen dentro de las 50 proteínas más abundantes de plaquetas (20). En este sentido, se ha descrito que la Gal-1 induce por interacción con polilactosaminas a un aumento de la motilidad celular inducida por un incremento de la expresión de la proteína RhoA, la cual está implicada en la polimerización de actina del citoesqueleto (28). Por lo tanto, para explicar nuestros resultados se podría postular la hipótesis de que la Gal-1 endógena formaría un complejo intracelular con la actina monomérica, fundamentado en los datos de PAGE e *immunoblotting*, en reposo, y que, quizás tras la activación, dicha lectina intervendría en la polimerización-depolimerización de actina, participando de esta forma en la activación y posterior agregación plaquetaria.

Por otro lado, existe un número importante de proteínas del citoesqueleto plaquetario, entre otras, talina, gelsolina,  $\alpha$ -actinina, cofilina, vinculina que participan facilitando o inhibiendo la polimerización de actina. En re-

lación con estas observaciones, surgió la propuesta de estudiar si la interacción de Gal-1 esplénica porcina con plaquetas humanas, desencadena la redistribución de la talina plaquetaria (29).

El hallazgo de Gal-1 endógena y de posibles receptores, permite suponer que un mecanismo autócrino actúe en la PltH para ejercer diferentes roles funcionales. La información disponible es muy escasa lo que demuestra la necesidad de profundizar otros aspectos, algunos de los cuales ya han sido abordados (localización y cambios ultraestructurales, asociaciones proteicas y receptores plaquetarios) y otros están pendientes de encarar, como su relevancia en la fisiopatología plaquetaria, en particular su vinculación a procesos tromboticos y a la inflamación.

## Referencias bibliográficas

- Gabius HJ. Animal lectins. *Eur J Biochem* 1997; 243(3): 543-76.
- Barondes SH, Cooper DNW, Gitt MA, Leffler H. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994; 269(33): 20807-10.
- Elola MT, Fink NE. Galectins: structure, sugar specificity and specific ligands. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2000; 34 (3): 293-330.
- Cooper DNW, Barondes SH. God must love galectins; he made so many of them. *Glycobiology* 1999; 9 (10): 979-84.
- Visegrády B, Than NG, Kilar F, Sümegi B, Than GN, Bohn H. Homology modelling and molecular dynamics studies of human placental tissue protein 13 (galectin-13). *Protein Eng* 2001; 14(11): 875-80.
- Ahmad N, Gabius HJ, Sabesan S, Oscarson S, Brewer CF. Thermodynamic binding studies of bivalent oligosaccharides to galectin-1, galectin-3, and the carbohydrate recognition domain of galectin-3. *Glycobiology* 2004; 14 (9): 817-25.
- Hirabayashi J, Kasai K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. *Glycobiology* 1993; 3 (4): 297-304.
- Hughes RC. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1473 (1): 172-85.
- Danguy A, Camby I, Kiss R. Galectins and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572 (2-3): 285-93.
- Liu FT, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2005; 5 (1): 29-41.
- Elola MT, Chiesa ME, Fink NE. Activation of oxidative burst and degranulation of porcine neutrophils by a homologous spleen galectin-1 compared to N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine and phorbol 12-myristate 13-acetate. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2005; 141(1): 23-31.
- Chiesa ME. Detección, purificación y posibles roles biológicos de diferentes galectinas porcinas [Tesis Doctoral]. 2004.
- Timoshenko AV, Gorudko IV, Maslakova OV, André S, Kuwabara I, Liu FT, *et al.* Analysis of selected blood and immune cell responses to carbohydrate-dependent surface binding of proto- and chimera-type galectins. *Mol Cell Biochem* 2003; 250(1-2): 139-49.
- Pacienza N, Pozner RG, Bianco GA, D'Atri LP, Croci DO, Negrotto S, *et al.* The immunoregulatory glycan-binding protein galectin-1 triggers human platelet activation. *FASEB J* 2008; 22 (4): 1113-23.
- Woods VL Jr, Wolff LE, Keller DM. Resting platelets contain a substantial centrally located pool of glycoprotein IIb-IIIa complex which may be accessible to some but not other extracellular proteins. *J Biol Chem* 1986; 261 (32): 15242-51.
- Youssefian T, Massé JM, Rendu F, Guichard J, Cramer EM. Platelet and megakaryocyte dense granules contain glycoproteins Ib and IIb-IIIa. *Blood* 1997; 89 (11): 4047-57.
- Elola MT, Chiesa ME, Alberti AF, Mordoh J, Fink NE. Galectin-1 receptors in different cell types. *J Biomed Sci* 2005; 12 (1): 13-29.
- González MM, Fink NE. Localización inmunohistoquímica de ligandos de galectina-1 en plaquetas humanas. 51ª Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica y 54ª Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología; 2006 Nov 8-10; Mar del Plata, Argentina. [Resumen publicado en *Medicina (B. Aires)* 2006; 66 (Supl. 2): 97-8].
- González M, Pistaccio L, Fink N. Galectin-1 binding to human platelets. *EUROMEDLAB: 17th IFCC-FESCC European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*; 2007 Jun 3-7; Amsterdam, Países Bajos. [Resumen publicado en *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(Suppl):S122, resumen nº M090].
- Martens L, Van Damme P, Van Damme J, Staes A, Timmerman E, Ghesquière B, *et al.* The human platelet proteome mapped by peptide-centric proteomics: a functional protein profile. *Proteomics* 2005; 5(12): 3193-204.
- Tenedini E, Fagioli ME, Vianelli N, Tazzari PL, Ricci F, Tagliafico E, *et al.* Gene expression profiling of normal and malignant CD34-derived megakaryocytic cells. *Blood* 2004; 104(10): 3126-35.
- Tapia Cadena M., González MM, Fink N. Estudios ultraestructurales de plaquetas en reposo o activadas y adicionadas con galectina-1. XX Congreso Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis, VIII Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis; 2008 Abril; Buenos Aires. [Resumen publicado en *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008; (Supp 1):97, resumen nº P-017].
- Fink NE, González MM. Galectina-1 purified from human platelets. The American Society of Hematology 47th Annual Meeting and Exposition. Georgia World Congress Center; 2008; Atlanta, Georgia. [Resumen publicado en *Blood* 2005; 105:16].
- González MM, Yoshizaki L, Fink NE. Galectina-1, una proteína menor de plaquetas humanas, se aísla como un complejo actina-lectina. 52º Congreso SAIC; 2008 Nov; Mar del Plata, Argentina. [Resumen publicado en *Medicina* 2008; 68: 112].

25. Caron M, Bladier D, Joubert R. Soluble galactoside-binding vertebrate lectins; a protein family with common properties. *Int.J Biochem* 1990; 22 (12): 1379-85.
26. Joubert R, Caron M, Avellana-Adalid V, Mornet D, Bladier D. Human brain lectin: a soluble lectin that binds actin. *J Neuro-chem* 1992; 58 (1): 200-3.
27. Pace KE, Lee C, Stewart PL, Baum LG. Restricted receptor segregation into membrane microdomains occurs on human T cells during apoptosis induced by galectin-1. *J Immunol* 1999; 163 (7): 3801-11.
28. Camby I, Belot N, Lefranc F, Sadeghi N, de Launoit Y, Kaltner H, et al. Galectin-1 modulates human glioblastoma cell migration into the brain through modifications to the actin cytoskeleton and levels of expression of small GTPases. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61(7): 585-96.
29. González MM, Fink NE. Patrón de localización de talina en plaquetas humanas lavadas adicionadas con galectina-1. IFCC-WorldLab. 20th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Fortaleza; 2008; Brasil. [Resumen publicado en *Clin Chem Lab Med* 2008; 46:H147]

## Líneas de trabajo del Grupo de Hemostasia y Trombosis

Directora: Alejandra Scazziota. Bioquímica y Prof. Adjunta de Hemostasia  
 Colaboradores: Bioquímicas Silvina Pons, Lourdes Herrera, Alicia Grinspon, Rosana Raimondi, Cristina Fernandez

Lugar de trabajo: Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica - INFIBIOC- UBA y Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires  
 E-mail: [ascazziota@gmail.com](mailto:ascazziota@gmail.com)

Nuestra línea de investigación enfoca el estudio de los factores de riesgo trombóticos tanto venosos como arteriales asociados a distintas patologías (1) (2). En los últimos años nos hemos dedicado al estudio de las mujeres con pérdidas fetales reiteradas que no poseen factores de riesgo tradicionales (inmunológicos, endocrinológicos, anatómicos) que justifiquen el aborto. Varias complicaciones obstétricas están asociadas a una deficiente circulación útero-placentaria en donde los desórdenes trombotogénicos en la madre pueden ser causa de una pérdida fetal. Si bien la asociación entre los abortos reiterados y la presencia de inhibidor lúpico ha sido ampliamente demostrada, no ha ocurrido lo mismo con las trombofilias congénitas. Con el objetivo de investigar este último aspecto, como parte de nuestro proyecto UBACyT, estudiamos distintos factores de riesgo congénitos en un grupo

de 103 mujeres que tuvieron 2 ó más abortos antes de la semana 17 de gestación, y que no presentaban síndrome antifosfolípido. Por un lado evaluamos alteraciones en los inhibidores fisiológicos: Proteína C, Proteína S, Antitrombina, Resistencia a la Proteína C activada, alteraciones del sistema fibrinolítico a través de la Prueba de oclusión venosa (3), y otros factores de riesgo como la hiperhomocisteinemia. Estos factores son los que comúnmente se evalúan por ser los más prevalentes y de los que se tiene más evidencia clínica, pero a medida que surgen resultados de los estudios epidemiológicos, nuevos factores de riesgo se van sumando a este perfil. No obstante, queda una franja de la población estudiada que no presenta ninguna alteración en los estudios habituales de trombofilia. En nuestra población de estudio encontramos un defecto hemostático en 34% de las mujeres estudiadas, 2 defectos en 12,6% y 3 defectos en 3,9%. Sin embargo en el 49,5% no obtuvimos ninguna alteración en los parámetros estudiados. Cuando investigamos otro inhibidor que ya habíamos considerado en las mujeres postmenopáusicas: el TFPI (inhibidor del sistema extrínseco de la coagulación), encontramos TFPI libre disminuido como factor de riesgo adicional de las pérdidas fetales recurrentes. De esta manera el porcentaje de mujeres abortadoras sin causas trombóticas disminuyó de 49,5% a 33%. Para estudiar su estado pro-inflamatorio medimos los marcadores de inflamación como la Proteína C Reactiva (PCR ultrasensible) y lo correlacionamos con la prueba de oclusión venosa, observando que la inflamación crónica de bajo grado de la pared vascular se asocia con disminución de la actividad del sistema fibrinolítico.

Algunos estudios no randomizados han demostrado la eficacia de las Heparinas de Bajo Peso Molecular (HBPM) en el tratamiento de mujeres trombofílicas que han tenido abortos recurrentes en embarazos anteriores. Pese a las controversias, estas pacientes son tratadas durante todo el embarazo con HBPM para favorecer la circulación feto-placentaria. Uno de los tantos efectos de la heparina consiste en liberar TFPI desde el endotelio a la circulación, lo que aumenta su concentración plasmática favoreciendo el equilibrio hemostático del microambiente placentario. En este sentido estudiamos la acción de la HBPM sobre las propiedades hemostáticas de las mujeres con abortos recurrentes obteniéndose resultados positivos de la prueba de respuesta a la heparina: comprobamos que las mujeres con TFPI libre más bajo, aumentan sus niveles pero presentan un patrón distinto de liberación comparado con las abortadoras con TFPI libre normal. Estos hallazgos podrían tener importantes implicancias terapéuticas tendientes a seleccionar posibles respondedoras y no respondedoras a la terapéutica.

Para evaluar el estado protrombótico de estas pacientes hemos aprovechado la puesta a punto de una prueba que ofrece un panorama más amplio del balance hemostático, como es la prueba de generación de trombina (GT) que comparada con las pruebas tradicionales de he-



mostasia, correlaciona mejor con los fenotipos hipo e hipercoagulables. Ya hemos empleado la prueba de GT para la evaluar el efecto de distintas drogas antitrombóticas o estados protrombóticos generados por algunas terapéuticas (4-8). En las mujeres abortadoras a través de esta prueba, no detectamos un estado de trombofilia, contrariamente a lo esperado existiría en ellas un factor trombogénico que estimularía permanente a la plaqueta, haciéndola hiporrespondedora a los estímulos externos aplicados "in vitro". Actualmente estamos evaluando las acciones antiinflamatorias de la HBPM en el endotelio de estas pacientes, luego de una prueba piloto con una única inyección de HBPM y también durante el embarazo de las mujeres sometidas a esta profilaxis anticoagulante, con el objetivo de hallar parámetros que permitan explicar el éxito o la falla terapéutica.

Como ya hemos mencionado, las HBPM se emplean con gran éxito en el tratamiento y profilaxis de enfermedades trombóticas. Estas HBPM se obtienen por diferentes métodos químicos a partir de la heparina regular. Últimamente se han desarrollado diferentes HBPM de las cuales la enoxaparina es una de las más empleadas en nuestro país. Debido a que la materia prima es de origen biológico (se extrae de mucosa porcina o bovina) y a que los procesos de fabricación son variados, la actividad de distintas HBPM pueden ser muy diferentes. Estas HBPM ejercen su efecto anticoagulante aumentando la capacidad inhibitoria de la antitrombina sobre las serino proteasas de la coagulación y liberando TFPI del endotelio vascular (9). En su proceso de fabricación se reduce la actividad anti-IIa con respecto a la actividad anti-Xa. Para evaluar su biosimilitud se deben comparar por lo menos, las actividades antiFXa y anti-FIIa, el perfil de liberación de TFPI endotelial y la actividad profibrinolítica. La determinación de la actividad anti-FXa es el *gold standard* para el monitoreo del efecto anticoagulante de las HBPM, sin embargo esta prueba tiene varias limitaciones debidas a las interacciones de la droga *in vivo*, que no son consideradas cuando la determinación se realiza *in vitro*. En cambio la prueba de GT permite estudiar el efecto anticoagulante de las heparinas, considerando no sólo la acción inhibitoria sobre el FXa and FIIa, sino también la acción sobre otras proteasas de la coagulación y sobre la liberación del TFPI endotelial. De esta manera correlacionamos la actividad anti-FXa con la GT y evaluamos la similitud biológica de dos enoxaparinas que se comercializan en nuestro país (10).

En este contexto nuestro grupo ofrece asesorías tecnológicas a empresas farmacéuticas dedicadas a la producción de HBPM biosimilares que para ser comercializadas requieran dosajes confiables de su actividad anti FXa y anti FIIa.

Una línea de trabajo que comenzamos a desarrollar de creciente interés y de gran controversia es el empleo del PRP autólogo como modulador y facilitador de la cicatrización, que se está utilizando tanto en cirugías bucales como traumatológicas. La cicatrización ósea tarda

aproximadamente el doble en los diabéticos respecto de los controles y los implantes están muchas veces contraindicados en estos pacientes. Cuando evaluamos el efecto del PRP sobre la cicatrización ósea en un modelo murino de diabetes inducida, hallamos un aumento significativo de la cantidad de hueso neoformado en el grupo de ratas tratadas con PRP respecto del grupo control. (11) Proyectamos evaluar los factores plaquetarios liberados en el sitio de la injuria que serían determinantes del proceso de reparación tisular.

## Referencias bibliográficas

1. Rouvier J, González C, Scazziota A, Altman R. Fibrinogen: intra-individual variability in patients with arterial disease and in patients with cardiac valve replacements. *Israel Med Assoc J* 2002; 4: 992-5.
2. Hirschson Prado A, Tajer C, Charask A, Altman R, Scazziota A, Gagliardi H, *et al.* Alteraciones de los parámetros hemostáticos, reactantes de fase aguda y troponina T en la angina inestable: prevalencia e implicancias clínicas. *Rev Argent Cardiol* 1997; 65: 21-38.
3. Altman R, Scazziota A, Rouvier J. Changes in clotting and fibrinolytic parameters produced by venous stasis. *Clin Appl Thromb Hemost* 1995; 2: 64-8.
4. Altman A, Scazziota A, Santoro S, Gonzalez C. Abciximab does not Inhibit the Increase of Thrombin Generation produced *in vitro* by Sodium arachidonate or tissue factor in platelets rich plasma. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005; 11: 271-7.
5. Altman R, Scazziota A, Herrera M, González C. Recombinant Factor VIIa reverses the inhibitory effect of aspirin plus clopidogrel on *in vitro* thrombin generation. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2022-7.
6. Altman R, Scazziota A, Herrera M, González C. Thrombin generation by activated Factor VII on platelet activated by different agonists. Extending the cell-based model of hemostasis. *Thromb J* 2006; 4: 5.
7. Altman R, Scazziota A, Herrera, González C. Relationship between thrombin generation and International Normalized Ratio in patients receiving oral vitamin K antagonist therapy. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1552-69.
8. Altman R, Scazziota A, Herrera MD, Gonzalez CD. The hemostatic profile of recombinant activated Factor VII. Can low concentrations stop bleeding in off-label indications? *Thromb J* 2010; 8: 8.
9. Altman R, Scazziota A, Rouvier R. Efficacy of unfractionated Heparin, low molecular weight heparin and both combined for releasing total and free Tissue Factor Pathway Inhibitor. *Haemostasis* 1998; 28: 229-35.
10. Altman R, Scazziota A, Keller G, Gonzalez C, Assefi A, Di Girolamo G. Effects of different enoxaparin preparations on thrombin generation and their correlation with their anti Xa activity. *Curr Med Res Op* 2010 (en prensa).
11. Grana D, Kokubu G, Scazziota A, Manzanel R, Rodriguez R. ¿Es el plasma rico en plaquetas promotor de la cicatrización ósea en ratas diabéticas? *Prensa Méd Argent* 2008; 95: 156-61.