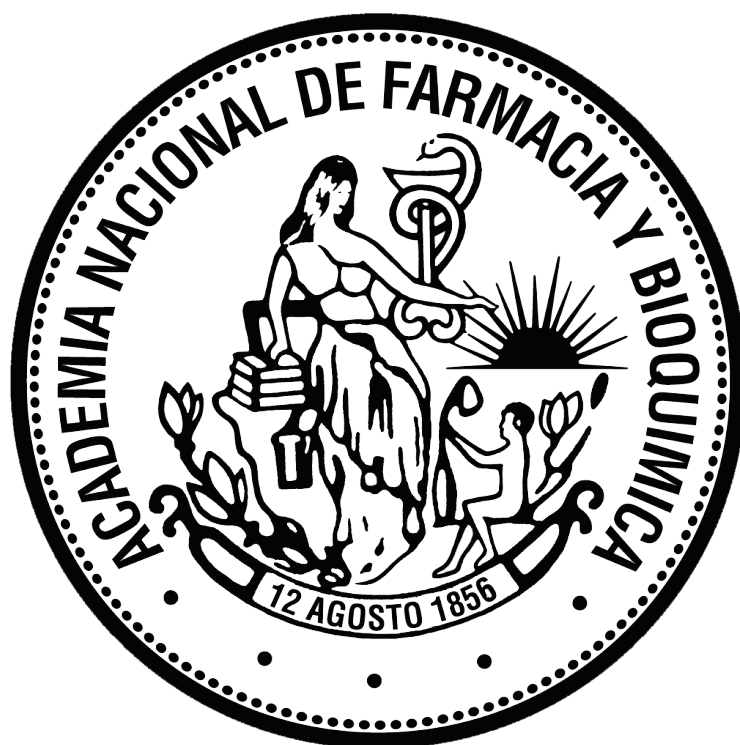


ANALES
DE LA
ACADEMIA NACIONAL
DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



2011

Las ideas que se exponen en los ANALES son de exclusiva responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente la opinión de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.

ANALES 2011



Fundada 1858

COMITE DE PUBLICACION

EDITORIAL BOARD

Editor:

Nacucchio, Marcelo C.

Miembros:

D'Aquino, Miguel
Baratti, Carlos M.
Caffini, Néstor O.
Diaz, Luis E.
Ióvine, Enrique
Mandrile, Eloy L.
Meda, Ronaldo
Roses, Otmaro E.
Rossi, Juan Pablo F.C.
Rubio, Modesto C.

Editada por la

**Academia Nacional
de Farmacia y Bioquímica**

Junín 956 - P.P.

Tel./fax: (011) 4964-8213

Buenos Aires

E-mail: acad@ffyb.uba.ar

Dirección Postal:

Junín 956 P.P.

1113 Buenos Aires - Argentina

<http://www.fyb.uba.ar/academia/infex.htm>

Diseño y composición laser:

MaiaPortnoy- tel.: 156-670-9768

La presente edición de
se terminó de imprimir en
Noviembre de 2012 en
MP, Malabia 2106 5ºD
Palermo
Ciudad de Buenos Aires

**ANALES DE LA ACADEMIA NACIONAL
DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
AÑO 2011**

Editada por la
Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica
Personería Jurídica Resol. Nº 1762-30/8/1968

CONSEJO DIRECTIVO 2011-2012

Presidente

Acad. Carlos M. Baratti

Vice-Presidente

Acad. Miguel Ángel Caso

Secretario General

Acad. Gabriel Mato

Prosecretario

Acad. Marta M. Salseduc

Tesorero

Acad. Ronaldo Meda

Protesorero

Acad. Miguel D' Aquino

Vocales Titulares

Acad. Carlos A. Gotelli

Acad. Juan Pablo F.C. Rossi

Vocales Suplentes

Acad. Otmaro E. Roses

Acad. Modesto C. Rubio

Revisores de Cuentas

Acad. Alfredo A. Hager

Acad. Eloy E. Mandrile

Acad. Francisco Stéfano

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACADEMICOS TITULARES

Acad. Sem M. Albonico	Acad. Miguel D`Aquino	Acad. Gabriel Mato
Acad. María Cristina Añón	Acad. Tomás de Paoli	Acad. Marcelo C. Nacucchio
Acad. Carlos M. Baratti	Acad. Luis E. Díaz	Acad. Edgardo Poskus
Acad. Mirta J. Biscoglio	Acad. Carlos H. Gaozza	Acad. Rubén V. D. Rondina
Acad. Alberto A. Boveris	Acad. Héctor I. Giuliani	Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Carlos Bregni	Acad. Carlos Gotelli	Acad. Juan Pablo F. C. Rossi
Acad. Rodolfo Brenner	Acad. Gabriel O. Gutkind	Acad. Modesto C. Rubio
Acad. Néstor O. Caffini	Acad. Alfredo A. Hager	Acad. Alfredo Salibian
Acad. Clyde N. Carducci	Acad. Silvia Hajos	Acad. Marta Salseduc
Acad. Ricardo A. Caro	Acad. Manuel R. Limeres	Acad. José Alberto Santome
Acad. Miguel A. Caso	Acad. Mario A. Los	Acad. Francisco J. E. Stéfano
Acad. Osvaldo D. Castrelos †	Acad. Eloy L. Mandrile	Acad. María Guillermina Volonté
		Acad. Regina L. W. de Wikinski

ACADEMICOS EMERITOS

Acad. Bandoni, Arnaldo L.	Acad. Ióvine, Enrique	Acad. Rodríguez, Horacio B.
Acad. Chechile, Héctor M.	Acad. Coussio, Jorge D.	Acad. Sanahuja, Juan Claudio
Acad. Chekherdemian, Mateo	Acad. Paladini, Alejandro C.	Acad. Somaini, Antonio

ACADEMICOS CORRESPONDIENTES

ARGENTINA

Acad. Amat, Aníbal
Acad. Cabada, Marcelo O.
Acad. del Valle Perdigón, Gabriela
Acad. Fay, Oscar H.
Acad. Fazio, Raúl C.
Acad. Lossa, Guillermo
Acad. Manzo, Rubén H.
Acad. Montecchia, Modesto P
Acad. Mottino, Aldo
Acad. Nadalin, Elsa María

Acad. Nicolini, Jorge O.
Acad. Orsingher, Otto
Acad. Pita Martín de Portela,
María Luz
Acad. Pechen, Ana María
Acad. Pérez, Hugo G.
Acad. Pesce de Ruiz Holgado, Aida
Acad. Riera, María Clelia
Acad. Sordelli, Daniel O.
Acad. Squassini, Marcelo

BRASIL

Acad. Pimenta, Aluisio
Acad. Cavalcanti, Caio Romero
CHILE
Acad. Arancibia Orrego, Aquiles
Acad. Montes Guyot, Marco A
Acad. Morán Gana, Rosa I.
Acad. Quilhot Palma, Wanda.

COLOMBIA

Acad. Fleming Martínez Rodríguez

CUBA

Acad. Galvis, Ricardo
Acad. Zayas Bazan y Perdomo, Héctor

ECUADOR

Acad. Araoz, Julio F.
Acad. Goetchel, Eduardo

ESPAÑA

Acad. Francés Causapé,
María del Carmen
Acad. Adzet Porredón, Tomás
Acad. Zaragoza García,
Francisco
Acad. Mariño Hernández,
Eduardo
Acad. Ylla Catalá Genis, Miguel
Acad. Monge Vega, Antonio

ESTADOS UNIDOS

Acad. Barrio, Jorge R.
Acad. Brioni, Jorge D.
Acad. Grifenhagen, George B.

Acad. Miller, Lloyd
Acad. Nimni, Marcel E.

FRANCIA

Acad. Aiache, Jean Marc
Acad. Fleury, Paul
Acad. Soto, Carlos

ITALIA

Acad. Govoni, Stefano

MEXICO

Acad. Joseph-Nathan, Pedro

PANAMA

Acad. Sanchez, Ceferino

PARAGUAY

Acad. Berganza, Luis H.

PERU

Acad. Pareja, Bertha P.
Acad. Pérez, José Amiel

Acad. Quevedo Ganoza, Fernando

VENEZUELA

Acad. Andrade, José Luis

URUGUAY

Acad. Ares Pons, Jorge
Acad. Cano Marotta, Cayetano
Acad. de los Santos Carvallido, Cosme
Acad. Delbene Garate, Uberfil
Acad. Fagiolino, Pietro
Acad. Lombardo de Bertolaza, Raquel
Acad. Menes, Justo Emilio
Acad. Moyna, Patrick
Acad. Olmos Ferreira, Aníbal Alberto
Acad. Polla Bermúdez, Oscar
Acad. Royer Meicoso, Joaquín E.
Acad. Sahakian Erganian, Hayg

ACADEMICOS HONORARIOS**BRASIL**

Acad. de Oliveira, Evaldo

ESPAÑA

Acad. del Castillo Garcia, Benito
Acad. Mayor Zaragoza, Federico †
Acad. Portugal, María Teresa Miras
Acad. Reol Tejada, Juan M. †

ITALIA

Acad. Paoletti, Rodolfo

SUMARIO



ANALES 2011



Conferencias

“Medicamentos seguros: Control de calidad y calidad en el control”

Por María Guillermina Volonté..... 8



Premios Otorgados

Premio 2011: “REBECA GERSHMAN” Área Fisiología

Nueva Evidencias del papel del Péptido Natriurético Tipo C en la funcionalidad vascular. Impacto en el conocimiento de los mecanismos fisopatológicos de la hipertensión arterial..... 13

Premio 2011: “AGUSTÍN D. MARENZI” Área Química Biológica

“Oclusión de Calcio en la Ca²⁺- ATPasa de Membrana Plasmática”..... 16

Premio 2011: “VÍCTOR NETHOL” Área Cosmética

“El desafío de evaluar la irritación ocular en cosmética”..... 17

Premio 2011: “LUIS DE PRADO” Área Legislación

“Legislación de medicamentos y desarrollo de la industria farmacéutica antes de la ley Oñativia. Los productos con pirazolonas”..... 20

Premio 2011: “JUAN C. GARCÍA FERNÁNDEZ” Área Toxicología

“Acción del Plaguicida Organofosorado Clorpirifos sobre el crecimiento celular e independiente de estrógenos”..... 22

PREMIO ANUAL 155º JORNADA CIENTÍFICA

La gabapentina, ¿un sorprendente fármaco que previene la enfermedad de Alzheimer?..... 27

PREMIO ANUAL ACCESIT “155º JORNADA CIENTIFICA” - ACCESIT Programación fetal de alteraciones en la morfología renal por deficiencia de zinc en ratas”.....	28
---	----



154º Jornada Científica

“Fraude científico”.....	29
--------------------------	----



Actividades Académicas	36
-------------------------------------	----



Conferencia de Incorporación

“Medicamentos seguros: Control de calidad y calidad en el control”

Por María Guillermina Volonté
Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica

Quisiera comenzar mi presentación recordando una frase atribuida a Aristóteles: *“La excelencia es el arte que se alcanza a través del entrenamiento y del hábito, nosotros somos lo que hacemos repetidamente, la excelencia entonces, no es un acto, sino un hábito”*

Durante más de 40 años dedicada a esta especialidad farmacéutica: el Control de Calidad de Medicamentos, he transitado por muchas etapas referidas al mismo, que fueron modificándose, ampliándose y actualizándose. Desde aquellos primeros controles, basados casi exclusivamente en reacciones colorimétricas, pasando por las primeras determinaciones cuantitativas en el histórico Colorímetro de Duboscq, donde era el ojo humano el que determinaba la concentración de una solución, por comparación con otra conocida, con solo observar un campo circular sombreado y variando el camino óptico para igualar la intensidad de las dos mitades de ese campo circular, aplicando posteriormente, sin embargo, la Ley de Lambert y Beer.

Podríamos recordar también al clásico “Crudo Caamaño”, un fotolorímetro a filtro, con el cual se seleccionaban solamente 7 rangos de longitudes de onda, efectuando la lectura en un dial circular, ó al Spectronic 20 desarrollado por Bausch & Lomb en los años '60. Cuántos de nosotros habremos hecho nuestras primeras cuantificaciones en alguno de estos equipos?

Luego aparecieron los primeros espectrofotómetros, de grandes dimensiones, recuerdo un Beckman DU2 que estaba en la cátedra. Grandes, si los comparamos con los actuales equipos, que con diseños modernos y estéticas líneas, no solo determinan absorbancias, sino también pueden derivar la señal en función de la longitud de onda o pueden ser de absorción atómica o de masa o presentar detectores a base de fotodiodos, que nos aportan informaciones más útiles y precisas.

Pero no solo los equipos y las técnicas fueron cambiando, el más importante cambio fue conceptual, la calidad de un medicamento dejó de estar basada solamente en el control propiamente dicho, para fundamentarse en los nuevos paradigmas de “fabricar con calidad”. Primó el

concepto que “de nada nos servirá un laboratorio de control de calidad, montado con equipos de última generación, si ya el medicamento tiene defectos de elaboración en sí mismo”, podremos detectar estos defectos, pero ese medicamento ya no cumplirá con su objetivo fundamental: llegar a manos de un paciente ofreciéndole eficacia y seguridad.

Por ello en los años '70, en Estados Unidos, se publican las primeras reglamentaciones relacionadas con las GMP (Good Manufacturing Practices) ó Buenas Prácticas de Elaboración de medicamentos, sin contar anteriores pero aisladas recomendaciones al respecto, siempre relacionadas con acontecimientos nefastos provocados por la falta de seguridad de determinados medicamentos. Los primeros textos relacionados con las GMP publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) datan de 1969, revisados, modificados y ampliados en los años '80 y '90. El término GMP se establece por primera vez en 1978. En el año 1992 la OMS publica un nuevo texto de GMP coincidiendo con las GMPs de la Unión Europea. En 1997 por una contaminación con dietilenglicol en un jarabe con paracetamol, para uso pediátrico, mueren 80 niños en Haití. Esto produce una respuesta internacional tendiente a armonizar regulaciones de manufactura y control de calidad.

Qué pasó en nuestro país? La primera ley relacionada fue la 16.463 de 1964, sobre importación y exportación de medicamentos. Entre 1991 y 1999 aparecieron diversas normativas, pero recién en 1999 se adoptaron las recomendaciones de OMS del año 1992 (Disp. 853/99) y en el año 2003 con la aparición de la VII edición de la Farmacopea Argentina, cuya anterior edición databa de 1978, se incorpora en el capítulo <1020> las Buenas Prácticas de Fabricación y Control, de aplicación obligatoria en la elaboración industrial de medicamentos. Posteriormente aparecen las Disp. 2819/2004, con los lineamientos generales de Buenas Prácticas de Fabricación para Elaboradores, Importadores/Exportadores de Medicamentos y 4844/2005 que establece la normativa aplicable a la etapa analítica para la realización de Estudios de Biodisponibilidad - Bioequivalencia. Posteriormente en el año 2008 en la Disp. 2372 aparece la Guía para inspectores sobre GMP y la clasificación de deficiencias de cumplimiento de las mismas, incluyendo las

medidas a tomar sobre la base de estas deficiencias observadas.

Hoy se habla de cGMP, refiriéndose a las GMP vigentes o actuales. También debemos mencionar a las Normas ISO (Organización Internacional de Estandarización) que establecen recomendaciones para los Sistemas de Gestión de Calidad: ISO 9000/2005, ISO 9001/2008 e ISO 9004/2009, así como las Guías de la Conferencia Internacional sobre la Armonización de Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos para Uso Humano (ICH), de Europa, Japón y EEUU de 1990.

Y porqué son importantes las GMP? En qué radica la obligatoriedad de su cumplimiento?

La OMS define las GMP como “el área de Garantía de la Calidad que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar a los productos, y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización”. Las GMP abarcan todos los aspectos del proceso de fabricación: locales, almacenamiento y transporte adecuados; personal calificado y capacitado para la producción y el control de la calidad; laboratorios apropiados; procedimientos e instrucciones escritas aprobados; registros donde consten todas las etapas de los procedimientos definidos adoptados; posibilidad de seguir un producto en todas sus etapas mediante registros de procesado de lotes y registros de distribución; y sistemas para la investigación de reclamos y retiros de productos.

Tienen como objetivo fundamental disminuir los riesgos inherentes a la producción farmacéutica, en especial riesgos provenientes de una contaminación cruzada o de una confusión provocada por un rotulado equivocado.

Cuando una persona se acerca por primera vez a estos conceptos, puede pensar que es algo sencillo. Pero en la práctica no lo es. Uno de los principales agentes que producen contaminación, confusiones y errores son las personas.

Los principales tipos de contaminantes, característicos de la industria farmacéutica, son:

1. Contaminación por partículas, polvo o suciedad.
2. Contaminación por mezcla errónea de componentes, como parte de la fórmula farmacéutica.
3. Contaminación por microorganismos.

La aplicación estricta de las GMP evita cualquiera de estas contaminaciones.

La meta de las Buenas Prácticas de Manufactura es garantizar productos seguros y que tengan la identidad, eficacia, pureza y calidad que el fabricante expresa que tiene.

Y por qué deben cumplirse estas condiciones?

- **Seguridad:** porque el producto debe ser destinado para consumo humano, sin efectos adversos o tóxicos debidos a errores de elaboración.
- **Identidad:** porque debe tener lo que declara su rótulo, sin excepción ni errores.
- **Potencia:** porque debe tener la concentración correcta para ser efectivo en su acción.
- **Pureza:** porqué tiene que ser puro, es decir, sin contaminantes
- **Calidad:** porque siempre debe elaborarse igual, con los mismos estándares de calidad.

No olvidemos que el Control de Calidad es una parte de las GMP.

El principio rector de las GMP debe ser que la calidad forma parte integral de la elaboración del medicamento, y no es algo que meramente se somete a prueba en el producto. Por consiguiente, con esto se asegura que el producto no sólo cumple con las especificaciones finales, sino que se ha fabricado por los mismos procedimientos y en las mismas condiciones cada vez que se elabora.

Hay muchas formas de lograr esto: la **validación** es la parte de las GMP por la cual se logra que los sistemas, los equipos, los procesos y los procedimientos para los ensayos de calidad estén bajo control y, por consiguiente, se produzca uniformemente un producto de calidad.

Es decir, llegamos a uno de los componentes de “la calidad en el control”: la validación.

La validación se define como el establecimiento de pruebas de laboratorio, debidamente documentadas, que aportan un alto grado de seguridad de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados, es decir, que dicho proceso será apropiado para el uso propuesto. Los estudios de validación son aplicables a los métodos analíticos, los equipos, los sistemas y servicios del establecimiento (como aire, agua, vapor) y a los procesos (como el de fabricación, limpieza, esterilización, llenado estéril, liofilización, etc.). Se hará una validación para el liofilizador como equipo y otra para el proceso de liofilización; una para la limpieza del material de vidrio y otra para la limpieza del establecimiento; y una para el proceso de esterilización y otra para las pruebas de esterilidad. Es preciso demostrar que cada paso del proceso de fabricación de un medicamento se efectúa según lo previsto.

Los objetivos de una validación son otorgar Confianza, Seguridad y Efectividad al proceso que se está validando.

Y por qué se debe validar? Porque un sistema validado es un sistema estable, capaz y robusto y es así como nos interesa mantenerlo, dado que estas características son esenciales para mantener altos niveles de calidad

Los estudios de validación verifican el sistema en estudio y en condiciones de pruebas extremas, semejantes a las que cabría esperar durante el proceso, a fin de comprobar que dicho sistema está bajo control. Una vez que el sistema o proceso se ha validado, cabe prever que permanezca bajo control, siempre y cuando no se hagan cambios en el mismo. Si se producen modificaciones o surgen problemas, o si un equipo se sustituye o se cambia de ubicación, habrá que efectuar la revalidación. Los equipos y procesos de importancia crítica se revalidan en forma sistemática a intervalos adecuados a fin de demostrar que siguen bajo control.

El concepto de validación se aplicó por primera vez en la producción estéril.

A raíz de varios graves incidentes ocurridos en Estados Unidos en 1968, en Inglaterra en 1972 y en Francia en 1977, donde murieron pacientes a los que se les habían administrado soluciones intravenosas contaminadas, se vio la necesidad de controlar más los procesos de esterilización y envasado aséptico.

En el caso de Inglaterra la investigación mostró 3 fallos no detectados: el autoclave no alcanzó en todo su volumen la temperatura de esterilización, por estar una válvula bloqueada; el operario hizo caso omiso del registro de temperatura (incorrecto) por ser correcto el de presiones y el test de esterilidad no detectó el fallo a pesar de estar contaminadas 1/3 de las unidades, ya que solo se muestreó de la parte superior de la carga.

Indudablemente los conceptos de Buenas Prácticas de Fabricación y de Validación no son nuevos. Lo único que constituye realmente una novedad de nuestros días es el carácter relevante y sistemático que han tomado. Y evidentemente... su obligatoriedad.

Considerando que las GMP forman parte de los Sistemas de Garantía de la Calidad, reafirmemos las 5 premisas fundamentales de dichos sistemas:

Decir lo que se hace, documentando todas las actividades
Hacer lo que se dice, cumpliendo con los documentos
Registrar lo que se hace, documentando los resultados
Evaluar lo que se ha hecho, realizando auditorías internas y externas, y
Actuar sobre las diferencias, es decir, actuar en consecuencia frente a la falta de cumplimiento de las especificaciones. Veamos ahora el tema concreto del Control de Calidad...

Un medicamento es un producto complejo que

requiere un protocolo de control, que solo puede garantizarse mediante la utilización de métodos analíticos apropiados. El empleo de estos métodos se inicia en la etapa de investigación y desarrollo de ese medicamento, para luego aplicarse en las diferentes fases de su fabricación, así como en estudios posteriores tales como los de bioequivalencia, analizando el fármaco en fluidos biológicos, para establecer condiciones de intercambiabilidad. En cada uno de los casos la metodología analítica deberá ajustarse a los requerimientos necesarios para cumplir con la finalidad específica de la mencionada etapa.

Qué interrogantes debemos afrontar cuando a calidad de un medicamento nos referimos?

Entre otros, los principales son:

La identidad y la pureza del principio activo y de los excipientes empleados en la formulación, ¿cumplen con las especificaciones farmacopeicas?

Cuál es el contenido de principio activo en la formulación? Cumple con lo que declara?

Cuál es su estabilidad y cuál su fecha de vencimiento?

A qué velocidad se libera el activo desde la forma farmacéutica, para luego absorberse?

Cuál es la concentración del fármaco en un fluido biológico, después de administrar una dosis de medicamento?

Para responder estos interrogantes debemos recurrir a los métodos analíticos. Pero la elección del método analítico adecuado, para responder a cada una de estas preguntas, será determinante para la veracidad de los resultados obtenidos, ya que no siempre el mismo método analítico será válido para obtener la respuesta correcta, quizás el método seleccionado para evaluar la pureza de la materia prima del principio activo, no sea el óptimo para controlar el contenido del mismo en la formulación o para establecer su estabilidad en dicha formulación. En las Farmacopeas podremos encontrar las especificaciones de los métodos a utilizar en cada uno de estos casos, así como la instrumentación más idónea, las cuales habitualmente requieren de la utilización de sustancias de referencia apropiadas, de calidad garantizada, tanto para calibrar los equipos utilizados, como para llegar a un resultado cuantitativo con el método de análisis propuesto.

En todos los casos los métodos analíticos que se utilicen deberán estar siempre validados, como cualquier otro proceso utilizado en la fabricación industrial de medicamentos, tal como ya hemos señalado.

Por **validación analítica** se entiende el trabajo experimental encaminado a obtener pruebas documentadas de que un método proporciona fehacientemente la información requerida al uso al que se destina. En otras palabras la validación nos otorga la confianza necesaria para aplicar el método y a su vez confiar en los resultados obtenidos: un método analítico validado es un método analítico confiable.

Las características del método que debemos verificar son la Exactitud y Precisión, que nos estarán evaluando el nivel de errores, tanto sistemáticos como aleatorios, inherentes al método en sí, y que según su significancia los aceptaremos o reformularemos el protocolo de aplicación del método, para minimizarlos ó adaptarlos a los requerimientos exigidos para cada método analítico, en lo que a errores se refiere.

La Especificidad, que nos expresará la aptitud del método para aplicarlo a un principio activo frente a diversos componentes que pudieran interferir con él, ya se trate de excipientes, productos de degradación, componentes endógenos de la muestra, en el caso de muestras biológicas, etc., es decir, en otras palabras, corroborar que la matriz que rodea al “analito”, no influirá en los resultados obtenidos al aplicar el método.

La Linealidad, que expresará en qué medida la señal obtenida al aplicar el método seleccionado se encuentra relacionada linealmente con los niveles de concentración utilizados.

El Límite de Detección y de Cuantificación, necesarios para conocer cuál es la mínima cantidad de principio activo que el método es capaz de detectar o de cuantificar con la debida exactitud y precisión. Y la Robustez del método, que dará confianza en su aplicación frente a cambios imprevistos en los equipos utilizados, en los analistas encargados de aplicarlo o en otros parámetros que se puedan alterar durante la utilización del mismo.

Por otra parte existe otra herramienta, el Test de Adecuabilidad o Idoneidad del Sistema (System Suitability Testing) cuya aplicación permitirá verificar que determinados parámetros instrumentales se mantienen bajo control, confirmando que nuestro sistema en particular, brindará resultados dentro de los límites especificados.

La existencia de Procedimientos Normalizados de Trabajo, en los que se detalla, de modo específico, el conjunto de actividades a realizar cuando se utiliza un instrumental determinado, es de vital importancia. Esto está en consonancia con otro aspecto que es imprescindible en lo que se refiere a la aplicación de métodos de control de calidad y nos estamos refiriendo a la documentación relacionada con la aplicación del método, con la obtención de datos “crudos”, con la elaboración de resultados finales, con la aplicación de métodos estadísticos que avalen dichos resultados, etc.

Para que los métodos de control de calidad proporcionen garantías suficientes de que cualquier unidad de dosificación, dentro de un lote, cumpla con los criterios de aceptación correspondientes, se debe combinar la ejecución de los ensayos analíticos con adecuados procedimientos de muestreo

que confieran una protección suficiente al fabricante para no liberar al mercado productos defectuosos, y lo que es más importante aún, evitar que lleguen a los pacientes medicamentos que se desvían de las características de calidad que deben cumplir.

Por ello, la calidad de los medicamentos es la suma de todos los factores que contribuyen directa o indirectamente, a la seguridad, efectividad y aceptabilidad del producto. Todos los productos farmacéuticos deberían usarse solamente después de que se demuestre que cumplieron con los siguientes requerimientos: GMP, controles de calidad e intercambiabilidad. Porqué es importante este último requisito? Porque las normativas vigentes autorizan al farmacéutico a sustituir medicamentos conteniendo el mismo principio activo, en igual dosis, forma farmacéutica y similar cantidad de unidades.

Por otra parte, los laboratorios de control de calidad hoy en día deben organizarse de tal manera que trabajen bajo estrictas normas de Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP), asegurando que los resultados obtenidos en dicho laboratorio sean confiables, para lo cual se deben disponer de reglas, procedimientos y prácticas que aseguren la calidad y rectitud de dichos resultados.

Los últimos avances en calidad están dados por el Proceso PAT (Process Analytical Technology) ó Tecnología Analítica de Proceso, al cual podemos definir como una oportunidad para mejorar y optimizar los procesos productivos y la calidad de los productos farmacéuticos. PAT es un sistema para diseñar, analizar y controlar la elaboración por medio de medidas en línea de los atributos definidos como críticos en las materias primas, productos intermedios, terminados y en el proceso en sí mismo. El término “analítico” en PAT tiene una definición amplia, abarcando cuestiones químicas, físicas, microbiológicas, matemáticas y de análisis de riesgo, trabajando en forma conjunta.

Los objetivos de trabajar con PAT son, entre otros, incrementar profundamente el conocimiento de los procesos productivos. El concepto de “calidad por diseño” se basa en este conocimiento acabado del proceso ya que solo con este conocimiento vamos a ser capaces de monitorear y controlar efectivamente un proceso. Debemos conocer los puntos críticos y saber qué propiedades medir en los mismos. Trabajar activamente para reducir la variabilidad de los mismos y reducir los muestreos y análisis off-line. Predecir la calidad del producto final por medio de medidas efectuadas en diferentes pasos de la elaboración del mismo.

Esto permitirá la liberación rápida de productos y la desaparición de eventuales “sorpresas desagradables” cuando se está esperando la salida de un producto, así como minimi-

zar los potenciales riesgos de no conformidades y problemas regulatorios.

PAT es una forma de control de calidad “en línea” que permite realizar pequeños ajustes en un lote en tiempo real, de modo que se pueda mantener su calidad y completar el proceso de acuerdo con un programa establecido. Un sistema PAT consiste en sensores conectados en red a sistemas computacionales que realizan aplicaciones analíticas para procesar en tiempo real datos en bruto sobre los lotes. No obstante, si no se cuenta en forma permanente con computadoras, redes y sistemas de almacenamiento adecuados, los sistemas PAT serán menos útiles que los procesos manuales. La infraestructura IT (Tecnología de la Información) deberá superar niveles estándar de confiabilidad, disponibilidad y tiempo de funcionamiento.

Resumiendo, un paciente debe tener la certeza que el medicamento que consume: no se haya contaminado, se haya fabricado de acuerdo a una formulación correcta, permanezca en su estado original y no se haya deteriorado y se encuentre en un envase correcto e inviolable, para evitar daños o contaminaciones en su transporte y almacenamiento. Pero volvamos al objetivo de esta presentación: para obtener un medicamento seguro no solo es necesario el control de calidad del mismo, sino que ese control deberá ser realizado con calidad, si a esto le sumamos la elaboración previa, también hecha “con calidad” podemos concluir que la calidad deberá acompañar a un medicamento desde su génesis hasta que llegue a manos del paciente. Y también quiero volver a Aristóteles: *...la excelencia, entonces, no es un acto, sino un hábito...* Y cuando de medicamentos y salud hablamos la excelencia es la calidad, así entonces podremos decir: *“la calidad, entonces, no es un acto, sino un hábito”*

Agradecimientos:

Deseo expresar mi agradecimiento a quienes de una manera u otra, contribuyeron a que mi carrera como docente e investigadora concluyera en este momento, con ésta, mi incorporación a la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica. En primer lugar a mis padres, gracias a quienes pude venir desde mi Saladillo natal a la ciudad de La Plata a estudiar la carrera de Farmacia. A mi familia, mi marido y mis dos hijos, que supieron comprender muchas horas de mi vida lejos de ellos. A mis compañeras de estudio, con las cuales realicé toda mi carrera y que hoy están aquí, acompañándome en este momento. A mis compañeros de la cátedra, a mi grupo de investigación y a mis alumnos, sin quienes no tendría sentido mi carrera como docente. Mi agradecimiento especial a la Dra. Marta Salseduc por su generosa valoración de mis antecedentes y a los miembros de esta Academia, por considerarme digna de incorporarme a ella. Muchas gracias a todos!

 Premio 2011: "REBECA GERSHMAN" Área Fisiología

Nueva Evidencias del papel del Péptido Natriurético Tipo C en la funcionalidad vascular. Impacto en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la hipertensión arterial.

Por Lic. Carolina C. Caniffi, Lic. Rosana Elesgaray, Dra. María de los Ángeles Cost y Lic. Cristina T. Arranz

Resumen

Es ampliamente conocido que la función cardiovascular y la homeostasis hidrosalina son controladas por complejos mecanismos que incluyen diferentes factores estructurales y funcionales. Existen evidencias de que tanto el péptido natriurético tipo C (CNP) como el sistema del óxido nítrico (NO) se encuentran estrechamente relacionados con la regulación del tono vascular (Moncada S y Higgs A, 1993; Simon A y col, 2009).

El NO es liberado por el endotelio vascular en respuesta a factores humorales y al aumento en las fuerzas de rozamiento, mientras que el CNP se encuentra marcadamente expresado en células endoteliales y es liberado en respuesta a factores de crecimiento y aumento de fuerzas de rozamiento. En vasos de resistencia coronarios y mesentéricos, el CNP actúa como el factor hiperpolarizante derivado de endotelio induciendo relajación a través de la interacción con el receptor natriurético tipo C (NPR-C) (Chauhan SD y col, 2003). Brunner y col demostraron además que en la relajación inducida por el CNP sobre los vasos coronarios participa la vía NO-cGMP (Brunner F y col, 2001) promoviendo la activación de protein-quinasas dependientes de cGMP y la fosforilación de proteínas implicadas en la defosforilación de cadenas livianas de la miosina, que es una condición previa para la relajación del músculo liso.

Los efectos celulares del CNP son mediados principalmente por una guanilil-ciclasa (GC) particulada o de membrana acoplada a los receptores natriuréticos tipo B (NPR-B) y por la activación de una adenilil-ciclasa o de una fosfolipasa C (PLC) a través del NPR-C (Arejian M y col, 2009; Anand-Srivastava MB, 2005; Murthy KS y col, 2000). El NO, en cambio, se une al grupo hemo de una GC soluble o citosólica, con un efecto modulador alostérico sobre la actividad de la enzima, que resulta en un aumento de los niveles de cGMP. Este aumento de la producción de cGMP, similar al producido por el CNP a través de la GC de membrana, lleva a una disminución de los niveles intracelulares de Ca^{2+} a través

de una cascada de múltiples reacciones (Moncada S y col, 1991).

Si bien se conocen acciones beneficiosas del CNP sobre distintos lechos vasculares, la mayoría de los mecanismos a través de los cuales ejerce sus efectos vasculares y su relación con la fisiopatología de la hipertensión arterial aún no están completamente dilucidados. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos del tratamiento agudo con CNP sobre el sistema del NO vascular en ratas jóvenes adultas espontáneamente hipertensas (SHR).

Materiales y métodos:

Animales: Se emplearon ratas macho SHR y controles normotensos (WKY) de 16 semanas de edad.

Protocolo I: Las ratas fueron infundidas con NaCl 0,9%p/v (grupos WKY- y SHR-NaCl) o CNP (bolus 10mg/kg +infusión 1mg/kg.min, grupos WKY- y SHR-CNP) durante 60 minutos. Se midió la presión arterial media (PAM, mmHg) en arteria femoral y se recolectó orina para determinar excreción de nitritos y nitros (NO_x, nmol/min.100g peso corporal). Al finalizar el período experimental, los animales fueron sacrificados por decapitación. Se extrajo la arteria aorta (Ao) para determinar la actividad de NO sintasa (NOS, pmol [U¹⁴C]L-citrulina/g tejido.min) utilizando [U¹⁴C]L-arginina como sustrato y la expresión de NOS endotelial (eNOS) e inducible (iNOS) por Western Blot.

Protocolo II: SHR y WKY fueron sacrificadas, se extrajo Ao, se midió la actividad NOS en presencia de CNP (1μM), L-NAME (1μM, inhibidor de NOS), calmidazolium (Cz, 1μM, bloqueante de calmodulina), 7-nitroindazol (7-NI, 10μM, inhibidor nNOS), aminoguanidina (AG, 1mM, inhibidor iNOS), anantina (A, 100nM, antagonista NPR-A/B), cANP₄₋₂₃ (1 μM, agonista NPR-C), toxina Pertussis (TxP, 800 ng/ml, inhibidor G₁₁₋₂).

Protocolo III: Se determinó la reactividad vascular en ratas Wistar normotensas y SHR. Se extrajo la Ao torácica descendente y se cortaron anillos de 3-5 mm, con (CE) y sin endotelio (SE), que se suspendieron en solución Krebs (O₂ 95% y CO₂ 5%, 37°C, pH=7,4), y se equilibraron 60 minutos ajustando a una tensión basal óptima de 1 g. Se pre-contrajeron con fenilefrina (10 µM) y se midió tensión isométrica (g) utilizando un transductor de fuerza ante el agregado de concentraciones crecientes de CNP y/o L-NAME (10 µM). Los resultados se expresaron como porcentaje de relajación (%).

Análisis estadístico ANOVA de dos factores, test a posteriori Bonferroni y t test.

Resultados:

Las ratas SHR, como era de esperar, presentaron valores significativamente mayores de PAM comparado con las WKY. El tratamiento con CNP disminuyó la PAM en ambos grupos de animales y esta caída fue similar en SHR y en WKY (WKY-NaCl=102±5; WKY-CNP=86±3*; SHR-NaCl=185±6*; SHR-CNP=168±5#; *p<0,01 vs WKY-NaCl, #p<0,01 vs SHR-NaCl; n=8 ratas/grupo).

La excreción de los metabolitos del NO fue significativamente mayor en los animales hipertensos que en sus controles normotensos. El CNP produjo un aumento significativo en la excreción de NO_x en ambos grupos, sin embargo dicho incremento fue menor en las SHR que en las WKY, indicando una menor respuesta del sistema del NO en los animales hipertensos (WKY-NaCl=1.01±0,12; WKY-CNP=1,38±0,09*; SHR-NaCl=1,48±0,10*; SHR-CNP=1,80±0,11#; *p<0,01 vs WKY-NaCl, #p<0,01 vs SHR-NaCl; n=8 ratas/grupo).

La actividad basal de la NOS en la arteria, fue mayor en las ratas SHR que en las WKY. El CNP aumentó la actividad de la enzima, en ambos grupos de animales. Sin embargo, la estimulación de la NOS inducida por el CNP fue menor en los animales hipertensos que en sus controles normotensos, sugiriendo que existen alteraciones en la respuesta al péptido (WKY-NaCl=199±8; WKY-CNP=296±9*; SHR-NaCl=349±9*; SHR-CNP=402±10#; *p<0,01 vs WKY-NaCl, #p<0,01 vs SHR-NaCl) Δ Wistar(CNP-NaCl)=97±9; ΔSHR(CNP-NaCl)=53±7^; ^p<0,01 vs ΔWistar(CNP-basal); n=8 ratas/grupo).

Si bien se observó reactividad positiva en la arteria aorta para las isoformas eNOS e iNOS en ambos grupos de animales, el CNP no modificó sus niveles proteicos, indicando que la expresión de estas isoformas no se ve afectada por la infusión aguda con el péptido en la arteria aorta.

El agregado de CNP *in vitro* indujo un aumento en la actividad de la NOS vascular, sugiriendo que la estimulación de la

enzima es independiente de los cambios hemodinámicos provocados por el péptido. La actividad basal de la NOS vascular fue significativamente mayor en SHR que en WKY (Tabla 1). El agregado de L-NAME, inhibidor de la NOS, al medio de incubación, disminuyó significativamente la actividad basal de la enzima en la arteria aorta, en WKY y en SHR, indicando que existe actividad específica de la NOS en condiciones basales en este tejido (Tabla 1). Como se observó en los experimentos *in vivo*, el aumento en la actividad de la NOS inducido por el CNP fue menor en SHR que en WKY, indicando que la respuesta del sistema del NO al péptido se encuentra alterada en los animales hipertensos comparado con los normotensos.

En ambos grupos de animales, el agregado de Cz provocó una caída en la actividad basal de la NOS. El bloqueo de la nNOS no modificó la actividad basal de la enzima ni la inducida por el CNP (Tabla 1). La AG provocó una disminución de la actividad basal de la NOS en ambos grupos de animales, que fue mayor en SHR que en WKY, indicando que esta isoforma sería la responsable de la mayor actividad basal del sistema del NO vascular, observada en este modelo de hipertensión. El bloqueo de la iNOS sobre la actividad basal de la NOS, así como sobre la actividad inducida por el péptido, fue similar, indicando que la isoforma inducible no es estimulada por el CNP (Tabla 1).

El aumento en la actividad de la NOS inducido por el CNP fue suprimido por el agregado de Cz en ambos grupos, sugiriendo la participación de una isoforma de NOS/Ca²⁺-calmodulina dependiente (Tabla 1).

La actividad de la NOS inducida por el CNP en la arteria aorta no se modificó en presencia del bloqueante de NPR-A/B en WKY y en SHR (Tabla 1). Estos resultados sugieren que los receptores NPR-A/B no se encontrarían involucrados en la activación de la NOS mediada por el CNP en la aorta, tanto en los WKY como en SHR. El aumento en la actividad de la enzima inducido por el agregado *in vitro* de cANP₄₋₂₃, agonista específico del NPR-C, fue similar al observado con CNP, indicando que en la arteria aorta el receptor involucrado en la activación de la NOS vía CNP sería el NPR-C (Tabla 1).

La TxP, que inhibe las proteínas Gi₁₋₂, también bloqueó totalmente el efecto del CNP sobre la actividad de la NOS vascular, tanto en los tejidos de los animales hipertensos como en los de los normotensos (Tabla 1).

En la figura 1 se observa que si bien las respuestas máximas fueron similares en ambos grupos de animales, se observó una disminución de la potencia del CNP en las ratas hipertensas respecto de los animales normotensos.

Discusión:

En este modelo de hipertensión arterial los valores elevados de PAM están acompañados por una mayor producción sistémica de NO y una actividad basal de la NOS vascular aumentada, indicando que el sistema del NO se encuentra sobreactivado en SHR adultas. La iNOS sería responsable de dicha actividad basal aumentada, sin embargo no participaría en la estimulación inducida por CNP. Nuestros resultados muestran que la isoforma involucrada en la interacción entre CNP y NO es la eNOS Ca²⁺-calmodulina dependiente. Tanto en los estudios *in vivo* como *in vitro* se observa que la activación de la NOS inducida por el CNP es menor en los animales hipertensos. Además, en los estudios *in vivo*, nuestros resultados muestran que el efecto hipotensor del CNP también es menor en SHR que en WKY, lo cual podría indicar que la respuesta disminuida del sistema del NO vascular al CNP podría ser responsable al menos en parte, de los valores elevados de presión arterial observados en este modelo de hipertensión.

Perspectivas:

El péptido natriurético tipo C no ha encontrado aún su lugar dentro de las estrategias farmacológicas desarrolladas para el tratamiento de la hipertensión arterial y patologías asociadas. Dado que los efectos beneficiosos del CNP a nivel vascular se traducen en una mayor respuesta vasodilatadora y un mejoramiento del flujo sanguíneo, el estudio de los mecanismos moleculares en modelos de hipertensión arterial y su relación con otros sistemas reguladores como el sistema del NO, pueden contribuir en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

	Actividad NOS (pmol / g tejido.min)	
	WKY	SHR
Basal	208.8±3.3	365.7±6.9*
CNP	311.4±5.4*	429.6±4.9#†
CNP+L-NAME	92.7±4.8*†	150.7±8.3#‡

Tabla 1: Efecto del CNP sobre la actividad de la NOS en ratas SHR

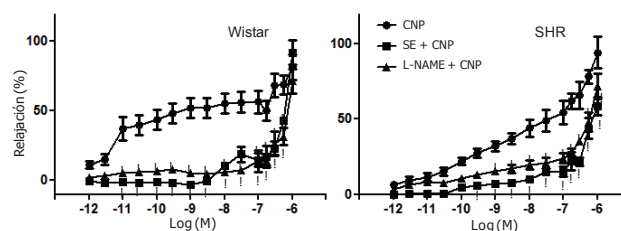


Figura 1: Efecto del CNP sobre el tono vascular en ausencia de endotelio y ante el agregado de L-NAME en ratas SHR. Los valores se expresan como media ± ESM (n=6 ratas/grupo), ANOVA, test a posteriori de Bonferroni. * p<0.01 vs CNP.

CNP+L-NAME	92.7±4.8*†	150.7±8.3#‡
CNP+Cz	120.6±6.1*†	170.6±7.9#‡
CNP+7-Ni	315.5±9.2*	433.2±10.8#
AG	182.5±8.7*	305.5±9.3#
CNP+AG	289.3±9.5†	370.7±9.3‡
CNP+A	310.1±6.8*	430.3±7.7#
cANP ₄₋₂₃	312.1±3.9*	430.9±4.3#
CNP+cANP ₄₋₂₃	315.6±4.8*	428.8±5.8#
CNP+TxP	204.1±9.7†	359.9±12.8‡

Los valores se expresan como media ± ESM (n=8 ratas/grupo), ANOVA de dos factores, test a posteriori Bonferroni. * p<0.01 vs WKY basal, # p <0.01 vs SHR basal; † p<0.01 vs CNP-WKY; ‡ p<0.01 vs CNP-SHR.

Bibliografía:

- Anand-Srivastava MB; Peptides, 2005
- Arejian M, Li Y, Anand-Srivastava MB; Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009
- Brunner F, Wolkart G; Cardiovasc, 2001
- Chauhan SD, Nilsson H, Ahluwalia A, Hobbs AJ; Proc Natl Acad Sci, 2003
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA; Pharmacol Rev, 1991
- Moncada S, Higgs A; N Engl J Med, 1993
- Murthy KS, Teng BQ, Zhou H, Jin JG, Grider JR, Makhlof GM; Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000
- Simon A, Harrington EO, Liu GX, Koren G, Choudhary G; Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009



Premio 2011: "AGUSTÍN D. MARENZI" Área Química Biológica

"Oclusión de Calcio en la Ca^{2+} -ATPasa de Membrana Plasmática".

Por Lic. Mariela Soledad Ferreira Gomes, Dr. Rodolfo Martín González Lebrero

IQUIFIB-Departamento de Química Biológica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

Junín 956, 1113, Buenos Aires, Argentina.

e-mail: mariefe@qb.ffyb.uba.ar

Resumen

La bomba de Ca^{2+} de membrana plasmática (PMCA) es una proteína integral de membrana esencial para el mantenimiento de la concentración de Ca^{2+} intracelular. Su función es transportar calcio hacia el exterior celular contra el gradiente electroquímico, impulsado por la hidrólisis de una molécula de ATP por cada catión transportado. La PMCA pertenece a la familia de las P-ATPasas, cuya característica común es la formación de un intermediario de reacción fosforilado ácido estable.

El ciclo de reacción de la PMCA involucra intermediarios fosforilados y transiciones conformacionales, tanto entre formas fosforiladas ($\text{E}_1\text{P} \leftrightarrow \text{E}_2\text{P}$) como desfosforiladas ($\text{E}_1 \leftrightarrow \text{E}_2$). Se postula que el Ca^{2+} se encontraría ocluido en la forma E_1P luego de unirse a sitios citoplasmáticos de la enzima y antes de ser liberado al exterior celular, que ocurriría luego de la transición $\text{E}_1\text{P} \rightarrow \text{E}_2\text{P}$. Se define como estado ocluido al estado en el cual el ión a ser transportado se encuentra oculto en la membrana, inaccesible tanto al medio externo como al medio interno de dicha membrana. Se cuenta con escasa información sobre estos intermediarios debido principalmente a dificultades metodológicas como la escasa concentración de PMCA en las membranas naturales. Por lo tanto, es de interés emprender estudios sobre la participación de los intermediarios con Ca^{2+} ocluido en el ciclo de reacción de la PMCA.

El objetivo de este trabajo es identificar y caracterizar el o los intermediarios con Ca^{2+} ocluido en la PMCA. Para esto desarrollamos un procedimiento que permite medir la oclusión de Ca^{2+} en microsomas con PMCA. Esto incluye un sistema de sobreexpresión de la Ca^{2+} -ATPasa y el uso de un aparato de mezclado rápido combinado con una cámara de filtrado, el cual permite el aislamiento de la enzima y la posterior cuantificación del $^{45}\text{Ca}^{2+}$ retenido (Ca_{ret}). Medidas de la cantidad de Ca_{ret} en función del tiempo presentaron un comportamiento bifásico con una primera fase

rápida y una segunda lenta. Cuando medimos el Ca_{ret} en función del tiempo en presencia de lantano, inhibidor del transporte de Ca^{2+} que bloquea el cambio conformacional $\text{E}_1\text{P} \rightarrow \text{E}_2\text{P}$ produciendo una acumulación de E_1P , se observó que el comportamiento continuaba siendo bifásico aunque la amplitud de la segunda fase era menor. La primera fase mostró una amplitud del mismo orden de la cantidad de PMCA activa medida en las mismas condiciones experimentales. Mediante el tratamiento con alameticina, un péptido que forma canales en la membrana, se eliminó en gran parte la segunda fase lenta sin afectar la fase rápida. El calcio retenido medido en presencia de alameticina fue entonces denominado calcio ocluido (Ca_{ocl}) por las vesículas conteniendo PMCA. Demostramos que el Ca_{ocl} medido era un verdadero intermediario del ciclo catalítico de la PMCA. Para ello medimos el Ca_{ocl} en estado estacionario en medios de reacción conteniendo concentraciones de Ca^{2+} que variaron entre 2 y 70 μM . La cantidad de Ca_{ocl} , en presencia de ATP, aumentó hiperbólicamente con la concentración de Ca^{2+} con un valor de $K_{0,5}$ de $12.7 \pm 2.2 \mu\text{M}$, este valor no fue significativamente diferente al obtenido para la actividad Ca^{2+} -ATPasa ($12.5 \pm 1.3 \mu\text{M}$).

Las medidas de la cantidad de fosfoenzima y del Ca_{ocl} en presencia de lantano, permitieron obtener una relación de $\sim 1 \text{ mol } \text{Ca}_{\text{ocl}}/\text{mol}$ de fosfoenzima. Esta relación es compatible con la estequiometría de transporte aceptada para la PMCA donde un mol de calcio es transportado por mol de ATP hidrolizado. Además, se midió la cantidad de intermediario fosforilado y de Ca_{ocl} en función del tiempo, en presencia de lantano y bajo las mismas condiciones experimentales, y se obtuvieron coeficientes de velocidad no significativamente diferentes. Indicando que la formación de la fosfoenzima E_1P y la oclusión de calcio son eventos simultáneos.

Estos resultados sugieren que hemos identificado un intermediario con calcio ocluido, que éste se encuentra en el E_1P y que la oclusión de calcio es concomitante con la fosforilación de la enzima en E_1P .



Premio 2011: "VÍCTOR NETHOL" Área Cosmética

"El desafío de evaluar la irritación ocular en cosmética".

Por Dra. Susana Beatriz Gorzalczany y Lic. Diana Gerarduzzi

Resumen

El ser humano incorpora en su vida cotidiana el empleo de diferentes compuestos químicos y/o mezclas de ellos con el fin de mejorar su salud, pero también su bienestar físico, psicológico y sus condiciones de vida. Se emplean medicamentos, productos cosméticos y de limpieza con dicho fin. Aunque está ampliamente aceptado que la utilización de un medicamento requiere que el beneficio a su empleo sea superior a los riesgos que pueda generar el mismo, este concepto, es extrapolable a los diferentes compuestos químicos a los que el humano está expuesto cotidianamente. La situación ideal es aquella en la que su uso aporta un efecto beneficioso sin que implique ningún riesgo para el usuario. Sin embargo, esta situación ideal no siempre puede traducirse en una situación práctica, por lo que se debe intentar reducir al mínimo posible los riesgos para la población.

Todo compuesto químico novedoso debe ser evaluado, desde diferentes aspectos para garantizar las bondades de su empleo, como así también sus riesgos. La evaluación de un potencial efecto tóxico debe ser abordada desde diferentes aspectos, unos más generales, como los estudios de toxicidad aguda, subaguda y crónica y otros más específicos como los estudios de teratogénesis, mutagénesis, ensayo de sensibilidad, de irritación dérmica entre varios más.

La evaluación de la actividad, empleando animales de laboratorio, es comúnmente utilizada en la industria farmacéutica, especialmente aquella especializada en productos biológicos, tales como hormonas, productos derivados de la sangre, entre otros. Sin embargo cuando se habla de estudios que evalúan la seguridad, no solamente le compete al área farmacéutica, sino también a otro tipo de actividades. Los productos cosméticos, aquellos empleados para la limpieza de hogares, comúnmente denominados domisanitarios, pesticidas y sustancias químicas empleadas en diferentes industrias son algunos ejemplos de productos no farmacéuticos de los

cuales se debe garantizar su seguridad para poder ser empleados por la sociedad.

En 1959, William Russel y Rex Burch publican "The principles of humane animal experimental techniques" y enunciaron por primera vez, los principios de las 3 R: Reducción, Refinamiento y Reemplazo. Este trabajo tenía como objetivo, propender al tratamiento humanitario de los animales de experimentación. Para los autores, el término Refinamiento se relaciona con la modificación de cualquier procedimiento durante la vida del animal de laboratorio que minimice el dolor, el sufrimiento o el stress experimentado por el mismo. El concepto de Reducción estudia las diferentes estrategias que permiten la utilización de menor cantidad de animales con el objetivo de contar con la misma información o maximizando la información obtenida por cada animal. El término Reemplazo sugiere priorizar los procedimientos que no empleen animales de laboratorio. Estos conceptos plantean un cambio de paradigma en la forma de acceder al conocimiento, recurriendo en primeras instancias, a modelos que no sean *in vivo* dejando el estudio en los modelos animales (*in vivo*) para etapas posteriores, con el objetivo de avalar, verificar y confirmar aquellos resultados obtenidos en etapas preliminares. En consecuencia, El principio de las 3Rs ofrece un marco teórico lógico y adecuado, permitiendo avanzar en la resolución de los cuestionamientos planteados a la experimentación *in vivo*.

En los últimos años estos principios han inspirado varias regulaciones logrando la armonización de guías de alcance internacional.

En el caso particular de los productos cosméticos introducidos en el mercado, éstos no deben causar daño a la salud humana si son utilizados de manera razonable acorde al uso propuesto. En consecuencia, la evaluación de seguridad aplicada para este tipo de productos recae sobre la industria participante de su elaboración. Sin embargo, otras entidades con fines de contralor o de investigación de nuevos ingredien-

tes o formulaciones, deben contar con estrategias para avalar la seguridad de estos productos.

Dado que el ojo está expuesto al ambiente, resultando vulnerable al efecto de agentes físicos o químicos que pudieran ocasionar alteraciones, daño o pérdida de la visión, una de las cuestiones fundamentales a considerar en la evaluación de la seguridad de los productos cosméticos es la irritación ocular.

En 1940, John Draize, trabajando en la FDA (Food and Drug Administration), comenzó a estudiar un método que le permitiera cuantificar la toxicidad de compuestos tópicos, publicando finalmente en el año 1944 las conclusiones de sus trabajos, transformándose en el comúnmente conocido test de Draize y siendo la publicación toxicológica más citada durante el siglo 20. Este test permitió evaluar el estado de irritación ocular, definida como la producción de cambios en el ojo, inducidas por la aplicación de una sustancia en estudio en la parte anterior del mismo y que es completamente reversible dentro de los 21 días de su aplicación. En cambio, la corrosión ocular genera un daño severo en el tejido, que compromete la visión y que no se revierte completamente luego de los 21 días. Durante muchos años este fue el único test disponible para evaluar la potencial irritación y/o corrosión ocular y empleando su estrategia de estudio se evaluaron diversos agentes químicos utilizados en diferentes áreas, cosmética, farmacéutica y también química. Sin embargo, en los últimos años estos estudios comenzaron a ser cuestionados, iniciando una fuerte presión para favorecer la implementación de ensayos que no involucren animales de laboratorio, describiéndose razones éticas, económicas, científicas y legales para avalar la implementación de otro tipo de metodologías. Se han descrito varios métodos que fomentan el concepto de Reemplazo para la evaluación de irritación ocular. Entre ellos, el RBC (Red blood cell) es un procedimiento basado en el uso de eritrocitos con el objetivo de cuantificar los efectos adversos de surfactantes sobre la membrana citoplasmática (hemólisis) en combinación con el daño a las proteínas celulares liberadas (desnaturalización). Estos cambios pueden ser detectados evaluando la absorbancia espectrofotométrica de la hemoglobina, indicador de ambos procesos, discriminando el daño ocasionado a la membrana y/o a las proteínas celulares, como criterios principales de valoración y que se correlacionarían con las potenciales lesiones inducidas en la conjuntiva y la córnea del ojo.

Para el presente estudio se emplearon 13 formulaciones cosméticas conteniendo surfactantes en su fórmula y que fueron adquiridas en establecimientos comerciales en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, las cuales fueron evaluadas por un método *in vivo* y por un método *in vitro*. Se empleó el procedimiento descrito por Draize y col. en 1944 y la OECD N°405 para la evaluación de irritación

ocular *in vivo* de los productos en estudio y los lineamientos del protocolo INVITOX N° 37 con pequeñas modificaciones para el estudio *in vitro*. Ambos métodos permiten la obtención de una clasificación desde no irritante hasta muy irritante de las muestras sometidas a análisis.

Un aspecto crucial, en los métodos *in vitro*, es que los mismos tengan un poder predictivo adecuado. Para abordar este aspecto, debemos realizar ensayos que empleen ambos métodos (*in vivo* e *in vitro*) y compararlos. En el caso que nos compete el ensayo *in vivo* (test de Draize), tiene una larga historia que lo respalda como buen predictor de riesgo de irritación ocular por haber sido y seguir siendo ampliamente usado. Sin embargo, los ensayos *in vitro* propuestos necesitan demostrar su valor predictivo y su confiabilidad. En este trabajo de investigación el grado de correlación existente entre ambos se obtiene empleando como parámetro del ensayo *in vivo* el score promedio máximo (SPM) y del ensayo *in vitro* el valor de H_{50}/DI (relación entre la concentración de cada muestra que indujo la lisis del 50 % de los glóbulos rojos y el índice de desnaturalización de la hemoglobina que produce la misma).

El análisis comparativo demuestra que no todos los productos estudiados presentan el mismo grado de irritación en ambos métodos, especialmente, cuando las muestras son potenciales agentes irritantes de grado medio (leves o moderados). En este punto, es importante aclarar que una de las críticas al ensayo *in vivo* es el componente de subjetividad del investigador para asignar los scores propuestos por el método, lo que podría favorecer la asignación diferencial de clasificación en ambos métodos analizados. Por otra parte, como cualquier método de análisis, el ensayo *in vitro* ha demostrado tener falsos positivos (aquellos en los que el estudio *in vivo*, tomado como referente dio negativo) y falsos negativos (cuando el test de Draize mostró un grado de irritación). Los coeficientes de correlación de Pearson de 0,6479 y correlación de Spearman de 0,6324 obtenidos demuestran cierto grado de correlación entre ambos estudios.

El ensayo *in vitro* seleccionado ha sido diseñado para evaluar agentes químicos cuyo efecto primario es el de producir la lisis de la membrana y/o la desnaturalización de las proteínas. Los tensioactivos, debido a su capacidad de interactuar con los lípidos de la membrana, pueden disminuir la tensión superficial, causando lisis y liberando hemoglobina (hemólisis) o producir daño a proteínas celulares (desnaturalización). Muchas formulaciones cosméticas contienen tensioactivos que, a pesar de su gran utilidad, pueden desencadenar reacciones irritantes en la piel y las mucosas. Además en los últimos años las moléculas surfactantes han sido un foco de interés en el ámbito científico y tecnológico, con el objetivo de generar nuevos tensioactivos. Esta situación torna al ensayo de hemólisis de eritrocitos de suma

utilidad, cuando se hace imperioso el análisis del potencial irritante de estos agentes en etapas de desarrollo.

Del análisis actual de la situación de métodos alternativos disponibles para estudiar la toxicidad *in vitro* de diferentes agentes, se desprende la imposibilidad de contar con un solo modelo *in vitro* representativo de la respuesta potencialmente irritante o corrosiva *in vivo*, debido a que cada uno de los métodos sometidos a investigación abordan sólo una parte de los mecanismos posibles que generan irritación. Por lo tanto, aún cuando el ensayo de hemólisis en eritrocitos no refleje fielmente la respuesta *in vivo* resulta ser una herramienta adecuada para ser empleada en las rutinas de laboratorio como parte de un grupo de ensayos preliminares para evaluar el potencial irritante de diferentes agentes, aunque circunscripto a aquellos que presenten tensioactivos en su formulación.

Del análisis del ensayo en glóbulos rojos seleccionado se desprenden varias ventajas. En primer lugar, que los reactivos empleados son de origen nacional, facilitando su disponi-

bilidad y accesibilidad. En segundo lugar, que el equipamiento de laboratorio necesario para su implementación es simple sin la necesidad de una infraestructura compleja y que el costo de la realización del ensayo es bajo. Además, como punto importante a considerar, tanto el manipuleo como la conservación de los materiales empleados no presentan grandes dificultades. De todo lo antedicho se puede concluir que el ensayo resulta ser económico, fácil de reproducir, rápido y con buena potencialidad predictiva.

La información suministrada por esta investigación aumenta el cuerpo de la evidencia para respaldar este ensayo, especialmente a nivel regional, ya que las muestras estudiadas y los reactivos empleados pertenecen al mercado argentino y plantea una estrategia de análisis que nos ofrece la posibilidad de reducir e incluso evitar, en determinadas circunstancias, la experimentación con animales.



Premio 2011: "LUIS DE PRADO" Área Legislación

"Legislación de medicamentos y desarrollo de la industria farmacéutica antes de la ley Oñativia. Los productos con pirazolonas".

Por Inés M. I. Bignone, Roberto A. Diez

Introducción

El estudio histórico del desarrollo de las regulaciones farmacéuticas en Argentina es relativamente escaso. Se destaca la clásica obra de Francisco Cignoli (1), que describe buena parte de las variables relevantes, a través de la historia de la Asociación Farmacéutica Bonaerense y las entidades que la continuaron, y su órgano de expresión, la Revista Farmacéutica. Nos propusimos retomar algunos de sus análisis, buscando casos que se relacionaran con su anticipado desarrollo de "una industria farmacéutica enteramente autóctona, susceptible de adaptarse con éxito a las modalidades de la postguerra". En este ensayo se analizarán algunas normas en vigencia en Argentina, entre 1905 y 1964, para enmarcar, desde el Estado, el funcionamiento de la industria farmacéutica, enfatizando las relevantes para el período inmediatamente posterior al estudiado por Cignoli. En particular, se analizará el caso de un producto farmacéutico que parecería corresponder a un genuino desarrollo local, que habría tenido comercialización hasta los inicios de la década del '60, aunque no ha llegado a nuestros días.

Materiales y Métodos

Para la realización de este trabajo se consultó el Archivo de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), el Archivo de Facultad de Medicina de la UBA (para consultar el legajo del Dr Miguel E. Jörg), la Biblioteca de la Facultad de Medicina de la UBA, el Boletín Oficial de la República Argentina y la base de datos de la National Library of Medicine de EEUU (mediante su buscador, Pubmed).

Desarrollo

A lo largo del siglo XX surgió la necesidad de disponer de un marco jurídico que garantizara el funcionamiento de la regulación farmacéutica y diera poder a las instituciones responsables de su control, lo que dio origen a lo que suele denominarse hacia fines de ese siglo "agencia reguladora de medicamentos", ejemplificada por la FDA de los EEUU, la EMA de la Unión Europea o, en Argentina, la ANMAT. En este trabajo nos referiremos sólo a una parte de tales actividades (las condiciones de registro sanitario de un producto

farmacéutico) en el período que va desde la primera ley que en 1905 atribuye incumbencia al Estado en la regulación farmacéutica, hasta la aparición de la actual ley de medicamentos, de 1964, analizando algunas de sus características y cotejando ese marco con algunos estudios de caso, en relación a desarrollo de la industria farmacéutica en el país.

En nuestro análisis intentaremos mostrar que, en contra de esa caracterización, en el período considerado (1905-1964) existió alguna capacidad de innovación e incluso de desarrollo de productos innovadores con moléculas novedosas, particularmente en el contexto de la política de sustitución de importaciones que caracterizó la economía argentina en los años '40 y '50. Para otros aspectos en cambio, utilizaremos las mismas categorías de análisis que Santoro (2000). Como se mencionó, parte del período a considerar es el denominado "de sustitución de importaciones"; durante el mismo, tanto a nivel mundial como local, era de importancia crítica el desarrollo de la farmacología. Para el estándar de la época, además, no era imprescindible la información clínica que es necesaria al presente. Más aún, no existía el concepto de biodisponibilidad ni, mucho menos, su aplicación práctica en los estudios de bioequivalencia.

Descripción y análisis de algunas normativas en vigencia durante este período.

- Ley 4687 (de 1905, también conocida como Ley de Farmacia), ya muy analizada, que daba incumbencia en el tema al Departamento Nacional de Higiene.

- Decreto 8891/43, de septiembre de 1943, cambiando las normas de regulación de medicamentos por el Departamento Nacional de Higiene y estableciendo simultáneamente un arancel sobre las especialidades medicinales y otros productos de uso en salud (por ejemplo, placas radiográficas). Resalta entre los considerandos la reivindicación de la potestad del Estado para asignar y cancelar el registro de los productos farmacéuticos. tales registros, dice, "se otorgan a las personas físicas o ideales, son intransferibles, sólo producen efectos de Derecho Público... y constituyen simples permisos de policía a personas determinadas, revocables y modificables por definición cuando la autoridad que los otorga lo estime

conveniente, sin otro límite que la corrección del procedimiento administrativo."

Ordena además el reempadronamiento de productos farmacéuticos establecido en la misma norma. También analiza y luego, en la parte resolutive, controla, el comercio exterior de medicamentos y crea en el Departamento Nacional de Higiene un organismo oficial especializado, la Comisión Nacional de Arancel y Contralor de Productos Medicinales, responsable de "... todo lo referente a la preparación y venta de las especialidades medicinales, recetas magistrales y oficinales, productos dietéticos y opoterápicos, sueros, vacunas y diversos agentes curativos, preventivos y de diagnóstico (como las placas radiográficas), productos químicos y drogas, tanto de uso humano como veterinario". Es de resaltar que entre el decreto original (de 1943) y la efectiva realización de la reinscripción pasaron varios años y se agregaron normas adicionales.

- S. Decreto 29.112/47

Este extenso decreto ordena buena parte de la normativa previa, con lo que la reglamentación en vigencia a partir de su sanción pasa a constar de 136 artículos, varios de los cuales son relevantes para la industria farmacéutica. El artículo 75 define qué es para la autoridad una especialidad medicinal: "todo medicamento industrializado, con fórmula declarada, de composición y actividad constante, fórmula farmacéutica estable, envase y presentación uniforme, distinguido con un nombre convencional o una marca, y que tiene por objeto: 1º) introducir en la terapéutica un nuevo elemento de acción contra la enfermedad; 2º) facilitar las prescripciones del médico; 3º) brindar una comodidad al enfermo; 4º) resolver mediante formas farmacéuticas perfeccionadas problemas de difícil o imposible solución técnica en la farmacia, y 5º) que pueda ofrecer ventajas al público por su estabilidad, esterilidad, practicidad, simplicidad, etc., o menor costo.

Las categorías eran: a) originales (especialidades medicinales que resultan de una nueva investigación, de diversos tipos); b) medicinales (los que sin ser originales, ni magistrales, tuvieron un beneficio "por la racional y novedosa asociación de sus elementos... o porque se trate de una innovación en la forma farmacéutica, de una novedad en las indicaciones, en la técnica de su administración o en los procedimientos de elaboración, tendientes a asegurar su estabilidad o eficacia"); c) magistrales (preparados industriales de fórmulas de la farmacopea o similares, cuya ventaja debe surgir del bajo precio al público), y d) diversas (las que no se pueden incluir en las anteriores, incluyendo las de "...acción discutible y de probada inocuidad, y que por razones psicológicas o circunstanciales correspondiera facilitar su expendio...") La categoría "diversas" es particularmente llamativa, y probablemente apuntaba a resolver la situación de varios productos aprobados en la etapa anterior, sin clara evidencia de utilidad, contrariando parcialmente el espíritu del decreto 8891/43 ya mencionado.

Estudios de caso de pirazolonas

En Argentina, según Jörg (1956), habría existido una pirazolona desarrollada localmente, la suldiipona (Dimenazona®). En 1954, año que correspondería a un temprano desarrollo del producto (ya que la síntesis se habría producido en 1953), se evaluó un conjunto de propiedades, que al presente denominaríamos como características de los AINE (analgesia, anti-pirexia e inhibición de la inflamación). El segundo trabajo tardó varios años en aparecer, siendo publicado en 1962, cuando ya el producto se encontraba con varios años en el mercado argentino y, probablemente, latinoamericano. En esta comunicación se analizaron otras propiedades farmacológicas de la suldiipona, empleando 5 ensayos diferentes en animales (ratones, ratas y cobayos). Llamativamente, este segundo estudio no tiene referencias a los pacientes que podrían haber estado recibiendo suldiipona, aunque hace varias inferencias al respecto. En forma similar a su comunicación previa, este trabajo no aparece mencionado en los libros de texto de la época.

Referencias

- Balliarda L. La industria farmacéutica argentina. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1972, 182 pp.
- Cignoli, F. Historia de la Asociación Farmacéutica y Bioquímica Argentina 1856-1946. Editorial Mireya, Buenos Aires, 1947, pp 1-413.
- Craveri J. (comp.) Anuario de los medicamentos nuevos. Buenos Aires, Peuser (por cuenta de Demarchi, Parodi y Cía), 1896, 493 páginas.
- Dorfman A. Historia de la radicación de la industria de específicos medicinales en la República Argentina. Mundo Médico 1943
- Jeppesen CV. *La industria farmoquímica en la década de los noventa: El caso argentino*, Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios Avanzados, Buenos Aires, Tesis de maestría, 1995.
- Jörg, ME. (1956). Farmacología de la Dimenazona. Sem Méd, 108:909-932.
- Jörg, ME. (1962). Dipirazolonas metansulfínicas. Desarrollo y nuevas propiedades farmacológicas. Sem Méd, 120:1437-1444.
- Santoro, FM. (2000). Innovación y sendero evolutivo en la industria farmacéutica: los casos de Argentina y España. CYTED: PGT/USP (Cadernos de Gestão Tecnológica; 48), São Paulo (Brasil), pp 1-83.
- Vallory, CF. (1950). "Guía de especialidades medicinales", Editorial Bibliográfica Argentina, Buenos Aires, p. 375.



Premio 2011: "JUAN C. GARCÍA FERNÁNDEZ" Área Toxicología

"Acción del Plaguicida Organofosforado Clorpirifos sobre el crecimiento celular e independiente de estrógenos".

Por Ventura C¹, Núñez M¹, Martinel Lamas D¹, Mohamad N¹, Randi A²,
Venturino A³, Rivera E¹, Cocca C¹

¹Laboratorio de Radioisotopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

²Laboratorio de Efectos Biológicos de Contaminantes Ambientales. Departamento de Bioquímica Humana. Facultad de Medicina, UBA.

³LIBIQUIMA, CONICET. E-mail: cventura@ffyb.uba.ar; cmcocca@ffyb.uba.ar

Introducción

Los compuestos organofosforados (OP) constituyen un grupo de sustancias altamente tóxicas, utilizadas en la actividad agrícola para el control de plagas e insectos. En la Patagonia Norte de nuestro país se produce la mayor proporción de peras y manzanas de exportación, fundamentalmente en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén con cerca de 60.000 Ha de producción. La aplicación de insecticidas, principalmente organofosforados, representa el mayor riesgo de impacto ambiental en esta zona, contaminando aguas superficiales y subterráneas, afectando poblaciones de especies acuáticas y poniendo en riesgo la salud humana^{1,2,3}.

El principal mecanismo de toxicidad de los compuestos organofosforados es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. Sin embargo, otros efectos independientes de dicha inhibición han sido reportados⁴.

Entre los plaguicidas organofosforados más utilizados se encuentran el metilazinfos y en menor medida el clorpirifos (CPF), ambos empleados en el control de carpocapsa en el Alto Valle.

En los últimos años, ha cobrado importancia el estudio de los contaminantes ambientales en relación al desarrollo de cáncer, en especial para el cáncer de mama, ya que muchos de los plaguicidas de uso corriente actúan como disruptores endócrinos en los individuos expuestos^{5,6}.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción del CPF sobre el crecimiento celular en líneas derivadas de carcinomas mamarios humanos dependientes e independientes de estrógenos.

Resultados

1- Efecto del CPF sobre la proliferación de las

líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231.

Acción del CPF sobre la viabilidad celular. La viabilidad celular fue evaluada mediante el ensayo de MTT a concentraciones de CPF que variaron entre 0.05 y 50 μM . La viabilidad celular no resultó significativamente disminuida con las concentraciones de CPF utilizadas, tanto en la línea MCF-7 como en MDA-MB-231 (figura 1A). Concentraciones de CPF superiores a 50 μM resultaron en una disminución significativa de la viabilidad celular y se descartó su empleo para el resto de los experimentos (datos no mostrados).

Efecto del CPF sobre la formación de colonias. Con el fin de evaluar el efecto del CPF sobre la capacidad clonogénica, las células fueron expuestas a diferentes concentraciones del tóxico durante 10 días. Se utilizó estradiol (E_2) 10 nM como control positivo en la línea MCF-7. El CPF en concentración de 50 μM redujo significativamente la capacidad clonogénica en ambas líneas celulares (40 y 60 % para MCF-7 y MDA-MB-231 respectivamente). Por otra parte, CPF 0,05 μM produjo un aumento del 46% en la capacidad clonogénica de las células MCF-7 mientras que no se observaron diferencias respecto al control en el caso de la línea MDA-MB-231 (figura 1B).

Acción sobre el tiempo de duplicación. Se determinó el tiempo de duplicación de las células expuestas al tóxico. Para ello, se expusieron a las células a alta (50 μM) y baja (0,05 μM) concentración de CPF y se determinó el número de las mismas cada 24 hs durante 4 días. Como se observa en la figura 1C, el CPF 50 μM prolongó significativamente el tiempo de duplicación en ambas líneas celulares.

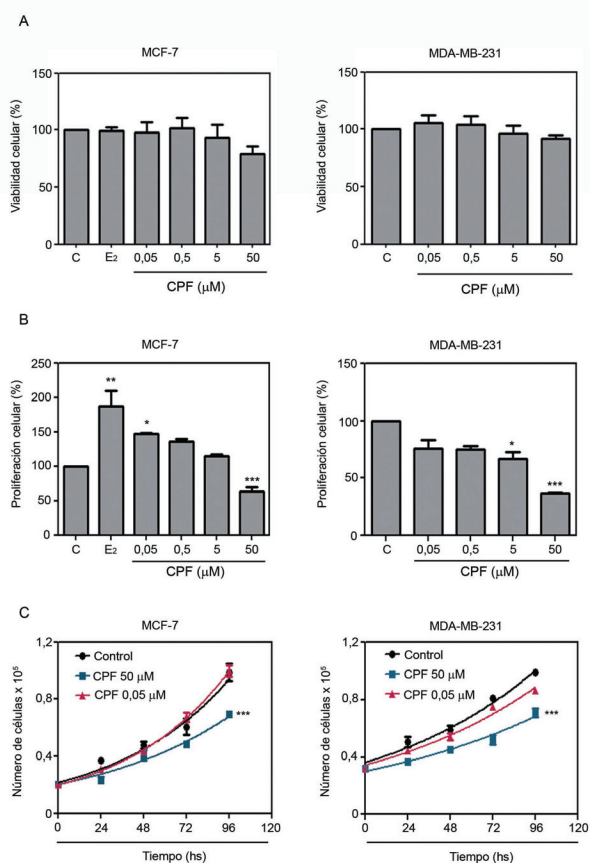


Figura 1

2- Efecto del CPF sobre el ciclo celular

Efecto sobre la distribución en las diferentes fases del ciclo. Dada la inhibición observada en la proliferación de ambas líneas celulares expuestas a CPF 50 µM, se determinó el efecto del tóxico sobre la distribución celular en las diferentes etapas de su ciclo. Este ensayo se realizó por citometría de flujo, utilizando yoduro de propidio (IP) como sonda fluorescente. El CPF 50 µM indujo modificaciones en el ciclo celular en ambas líneas celulares (figura 2). Para las células MCF-7, se observó un aumento significativo en el porcentaje de células en la fase S de su ciclo (49 % respecto al control) mientras que en la línea MDA-MB-231, se encontró un aumento en el porcentaje de células en fase G2/M (57 % respecto al control). Por otra parte, concentraciones de CPF inferiores a 50 µM no generaron modificaciones en la distribución celular en ninguna de las líneas celulares ensayadas.

Efecto sobre la incorporación de Bromodeoxiuridina. Con el fin de evaluar el porcentaje de células en activa síntesis de ADN, determinamos la incorporación de BrdU luego de 24 hs de tratamiento con CPF. Las células fueron incubadas con BrdU durante 2 hs a 37 °C y, posteriormente, se determinó el porcentaje de células positivas por inmunocitoquímica. En la línea MCF-7 no se observaron

diferencias en el porcentaje de células en síntesis entre el tratamiento con CPF 50 µM y el control (figura 3). Por otra parte, el CPF 0,05 µM produjo un aumento significativo en la proliferación celular (58 % respecto al control). En la línea celular MDA-MB-231, no se observaron modificaciones en el porcentaje de células en proliferación a las concentraciones estudiadas.

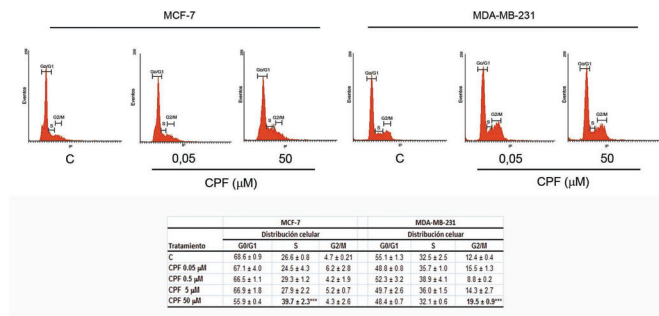


Figura 2

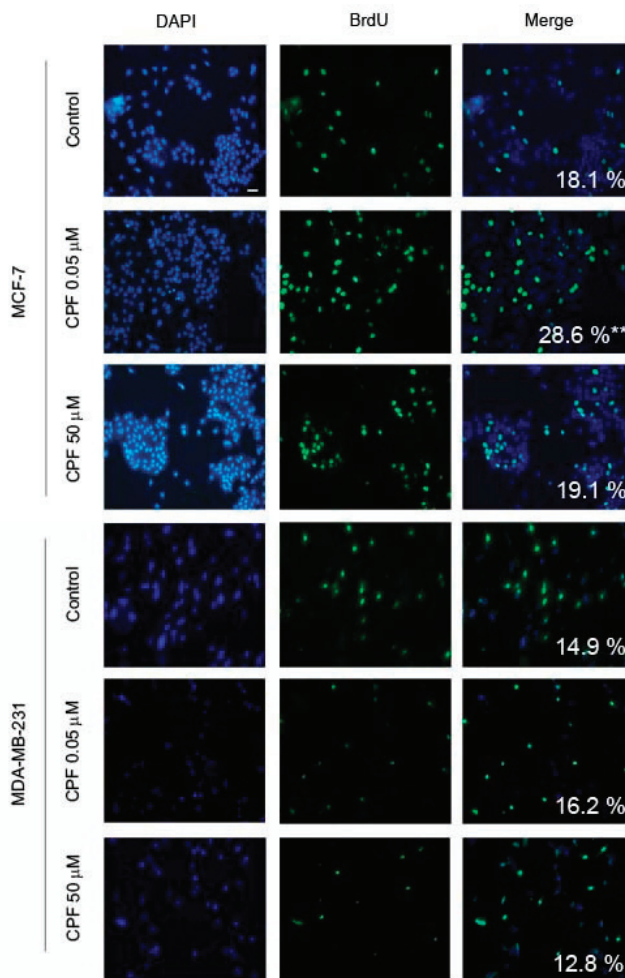


Figura 3

Efecto sobre proteínas reguladoras del ciclo celular. La entrada a la fase S del ciclo celular, se encuentra controlada por la acción de un complejo proteico formado por ciclina E y Cdk2. Los niveles de Ciclina E se encontraron aumentados en un 80 % cuando las células MCF-7 se exponen al tóxico en altas concentraciones (50 μ M), lo cual se corresponde con el arresto celular observado en la fase S del ciclo (figura 4). Si bien no llega a ser significativo, también se observó un aumento de Ciclina E cuando se utilizó CPF 0,05 μ M. Por otro lado, en la línea MDA-MB.231, no se observaron modificaciones significativas en los niveles de Ciclina E en ninguna de las concentraciones estudiadas.

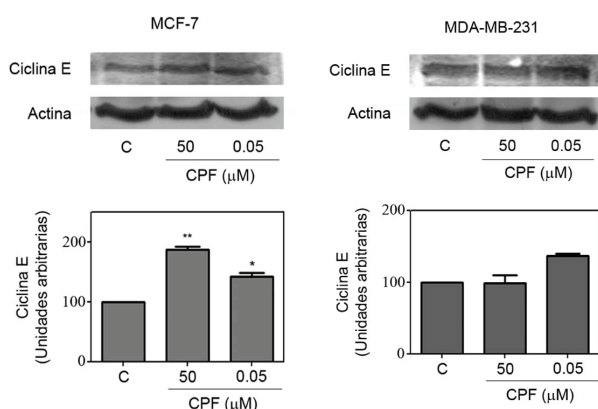


Figura 4

3- Estudios de las vías involucradas en los efectos inducidos por CPF 0,05 μ M en la línea celular MCF-7.

Fosforilación del Receptor estrogénico alfa (RE α).

Se evaluó si el CPF es capaz de producir modificaciones en la fosforilación del RE α . El estudio se realizó por Western Blot, luego de exponer a las células MCF-7 a diferentes concentraciones de CPF durante 15 minutos. La exposición de las células a bajas concentraciones de CPF produce un aumento del 85 % en la fosforilación del RE α respecto del control. Sin embargo, no se observaron diferencias en la fosforilación de dicho receptor cuando las células fueron expuestas a CPF 50 μ M (figura 5).

4- Efecto del CPF sobre el balance redox celular.

Efectos sobre el contenido de especies reactivas del oxígeno (ROS). El contenido intracelular de ROS es uno de los principales factores implicados en la generación de daño celular. Por este motivo, evaluamos el contenido de especies oxidantes presentes en células expuestas a diferentes concentraciones de CPF durante 24 hs. El contenido intracelular de ROS fue analizado utilizando la sonda fluorescente DCF-2DA y cuantificado mediante citometría de flujo. Como se observa en la figura 6A, la exposición de ambas líneas celulares al tóxico en altas concentraciones, produjo un aumento en el

contenido intracelular de ROS (58 % y 108 % respecto al control, para MCF-7 y MDA-MB-231 respectivamente). Por otro lado, cuando se utilizaron concentraciones menores a 50 μ M, no se observaron modificaciones significativas en el contenido celular de ROS en ninguna de las líneas celulares utilizadas.

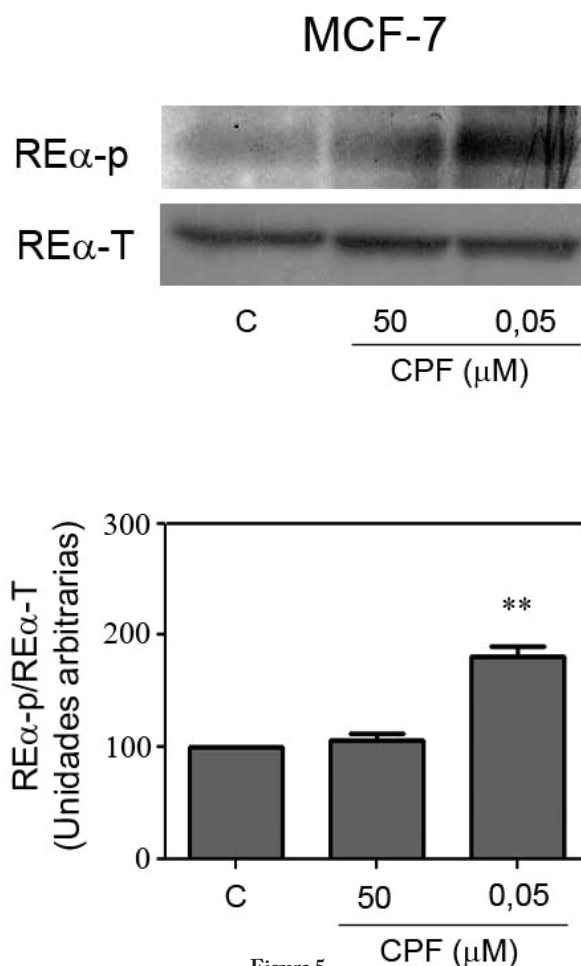


Figura 5

Contribución del peróxido de hidrogeno al aumento de ROS. Dado que la sonda utilizada nos permite cuantificar el nivel de todas las especies reactivas del oxígeno si discriminar entre las mismas, decidimos evaluar la contribución del H₂O₂ al aumento de fluorescencia observado previamente. Para ello, se agregaron 60 unidades de enzima catalasa durante 15 minutos antes de la incubación con DCF-2DA. Como se observa en la figura 6B, el agregado de catalasa revirtió completamente el aumento en los niveles de ROS producidos por el CPF 50 μ M en la línea MCF-7, dejando a las especies oxidantes en niveles comparables con las del control. Por otra parte, en la línea MDA-MB-231 el efecto del CPF en altas dosis sobre los niveles de ROS intracelulares no fue modificado por el agregado de catalasa exógena.

Efecto sobre la expresión y la actividad de la enzima catalasa. La catalasa es un componente clave del sistema antioxidante celular. Esta enzima elimina el exceso de peróxido de hidrogeno que puede generar daño en los sistemas biológicos. La determinación del contenido de catalasa fue realizada mediante Western Blot en lisados de células expuestas a diferentes concentraciones de CPF durante 24 hs. Como se muestra en la figura 7A, el contenido de catalasa no fue afectado por la exposición al tóxico en ninguna de las concentraciones evaluadas. Este resultado se repite en ambas líneas celulares. Debido a que no se observaron modificaciones en el contenido de proteína catalasa, decidimos investigar si el CPF modifica la actividad de dicha enzima en nuestro sistema de estudio. La actividad catalasa fue evaluada siguiendo espectrofotométricamente la disminución de la concentración de peróxido de hidrogeno. Como se observa en la figura 7B, la actividad enzimática no fue modificada significativamente por el CPF en ninguna de las concentraciones utilizadas. Este resultado es similar en ambas líneas celulares.

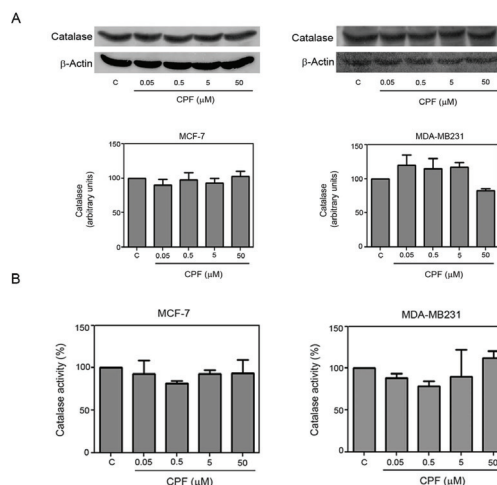


Figura 7

El CPF en alta concentración (50 μM) inhibió la proliferación, produjo un retardo en la velocidad de crecimiento e indujo un arresto en la fase S o G2/M de las células expuestas, sin modificar la viabilidad de las mismas.

Varios trabajos señalan que el CPF es capaz de provocar estrés oxidativo y que el mismo puede inducir alteraciones en la estructura del ADN⁹. En este trabajo, observamos un aumento en el contenido de ROS cuando las células fueron expuestas a CPF 50 μM. En el caso de las células MCF-7, el tratamiento con catalasa fue suficiente para revertir el estado de estrés producido por el CPF, llevando los niveles de ROS a valores basales. Este resultado sugiere que la especie reactiva preponderante en el desbalance redox es el H₂O₂. Por otro lado, en la línea MDA-MB-231, el agregado de catalasa no alcanzó para revertir el efecto del CPF, indicando que se estarían produciendo principalmente otras especies oxidantes. El aumento en los niveles de ROS, generado cuando las células se exponen a altas concentraciones de CPF, podría estar vinculado con el arresto de las mismas en la fase de síntesis de su ciclo. Se ha demostrado que varios compuestos presentes en el medio ambiente son capaces de inducir modificaciones en la estructura del ADN y producir un arresto del ciclo en la fase de síntesis^{10,11}.

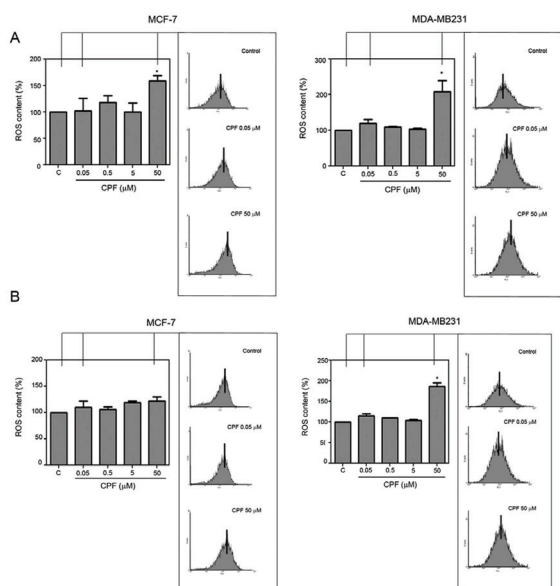


Figura 6

Discusión

El uso intensivo de los plaguicidas ha provocado un aumento de la concentración de estos tóxicos en el medio ambiente y varios reportes han alertado acerca de las acciones que podrían tener como agentes carcinogénicos^{7,8}. El CPF, es un pesticida organofosforado de amplio espectro utilizado para el control de plagas e insectos. Además de su uso agropecuario, el CPF es utilizado como insecticida doméstico en muchos países del mundo.

En el presente trabajo se describen los efectos del CPF sobre el crecimiento celular, que resultaron ser altamente dependientes de la dosis a la cual las células fueron expuestas.

La ciclina E permite el paso de las células desde la fase G₀/G₁ a la fase S de su ciclo¹². Si bien altas concentraciones de CPF (50 mM) causan un incremento en los niveles celulares de ciclina E, el mismo podría estar asociado con la acumulación de células en fase S, ya que en este caso las células presentan una velocidad de crecimiento menor que los controles y una síntesis de ADN semejante. Por otro lado, en la línea celular MDA-MB-231, se observa un aumento en el porcentaje de células en fase G₂/M para todas las concentraciones de CPF evaluadas, el cual podría relacionarse con la capacidad del CPF de unirse covalentemente a la tubulina,

proteína clave en la formación del huso mitótico¹³.

Se reportó que muchos de los plaguicidas de uso corriente pueden modificar la actividad aromatasa, enzima clave en la síntesis de estradiol¹⁴. Nuestros resultados indican que la exposición de las células MCF-7 a CPF 0,05 μ M produce un aumento en la fosforilación del RE α y a su vez un aumento en el contenido de ciclina E. Estos resultados, junto con el aumento en la capacidad clonogénica y en la incorporación de BrdU observados en la línea celular MCF-7, sugieren que el CPF puede inducir la proliferación celular mediante la activación del RE α . Para confirmar estos resultados, se deben realizar estudios utilizando inhibidores de dicho receptor.

Nuestros resultados indican que el CPF a dosis altas inhibe del crecimiento mientras que a dosis bajas estimula la proliferación. Dado que efecto proliferativo sólo se manifestó en la línea MCF-7, la cual expresa el RE α y es dependiente de estrógeno para su crecimiento, esta acción podría estar relacionada con el efecto estrogénico que se le ha adjudicado a ese tóxico.

Bibliografía

1. Loewy M, Kirs V, Carvajal G, Venturino A, Pechen de D'Angelo A M. (1999). Groundwater contamination by azinphos methyl in the Northern Patagonic Region (Argentina). *Sci. Total Environ.* 225, 211–218.
2. Anguiano O L, Pechen de D'Angelo A M. (2007). Provincia de Río Negro y Provincia de Neuquén. En: La problemática de los agroquímicos y sus envases, la incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta y el ambiente. Ministerio de Salud de la Nación, OPS/OMS, Buenos Aires, p. 181–201.
3. Loewy M, Carvajal G, Pechen de D'Angelo A M. (2003). Residuos de plaguicidas en efluentes de industrias agroalimentarias y aguas superficiales. En: Herkovits, J. (Ed.), *Environmental Toxicology and Chemistry, Contributions for a Sustainable Development*. Latin American Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Buenos Aires, p. 193–195.
4. Costa, L G. (2006). Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta* 366; 1-13.
- 5- Mnif W, Hassine AI, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B. *Int J Environ Res Public Health.* 2011 Jun;8(6):2265-303. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review.
- 6- Stefanidou M, Maravelias C, Spiliopoulou C. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2009 Sep;9(3):269-76. Human exposure to endocrine disruptors and breast milk.
7. St--Hilaire S, Mandal R, Commendador A, Mannel S, Derryberry D. *Int J Health Geogr.* 2011 May 10;10:32. Estrogen receptor positive breast cancers and their association with environmental factors.
8. Vinson F, Merhi M, Baldi I, Raynal H, Gamet-Payrastré L. Exposure to pesticides and risk of childhood cancer: a meta-analysis of recent epidemiological studies. *Occup Environ Med.* [Epub ahead of print]
9. Gupta S C, Mishra M, Sharma A, Deepak Balaji T G R, Kumar R, Mishra R K, Chowdhuri D K. (2010). Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in *Drosophila* through generation of reactive oxygen species. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1415–1423.
10. Wilson DM 3rd, Sofinowski TM, McNeill DR. (2003). Repair mechanisms for oxidative DNA damage. *Front Biosci.* 8:d963-81.
11. Shishodia S, Sethi G, Ahn KS, Aggarwal BB. (2007.) Guggulsterone inhibits tumor cell proliferation, induces S-phase arrest, and promotes apoptosis through activation of c-Jun N-terminal kinase, suppression of Akt pathway, and downregulation of antiapoptotic gene products. *Biochem Pharmacol.* 74(1):118-30.
12. Abukhdeir AM, Park BH. (2008). P21 and p27: roles in carcinogenesis and drug resistance. *Expert Rev Mol Med.* 10:e19.
13. Sachana M, Flaskos J, Sidiropoulou E, Yavari CA, Hargreaves AJ. *Toxicol In Vitro.* 2008 Aug;22(5):1387-91. Inhibition of extension outgrowth in differentiating rat C6 glioma cells by chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon: effects on microtubule proteins.
14. Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, Gjermansen IM, Bonefeld-Jørgensen EC. (2002). Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol.* 179(1):1-12.



La gabapentina, ¿un sorprendente fármaco que previene la enfermedad de Alzheimer?

Por Prof. Blake, MG; Boccia MM; Krawczyk MC

Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

La gabapentina (GBP) es un fármaco desarrollado por los Laboratorios Parke-Davis con un amplio espectro terapéutico que la hace útil para el tratamiento del dolor neuropático, la epilepsia, el síndrome de las piernas inquietas, los trastornos por ansiedad, la depresión, la migraña y varios desórdenes neuropsiquiátricos. Luego de casi dos décadas de uso en clínica ha demostrado ser un fármaco con una alta eficacia y un elevado índice de seguridad. Su mecanismo de acción consiste en el bloqueo de los canales de calcio voltaje-dependientes de tipo L, lo que causa, entre otras cosas, una estimulación del sistema colinérgico central. El vínculo existente entre la reducción de la actividad colinérgica y la progresión de la enfermedad de Alzheimer hacen de esta droga un buen candidato para su prevención. En el presente trabajo se analizan las acciones de la GBP sobre una cepa de ratones triple transgénicos que constituyen un modelo animal de la enfermedad de Alzheimer y un estudio prospectivo sobre el uso de este fármaco en pacientes que se hallan en fase temprana de la enfermedad. La GBP mejora la memoria tanto en los ratones transgénicos como en los pacientes, y este efecto se consigue incluso con una sola administración, demostrando que la GBP previene el desarrollo y la progresión de la enfermedad de Alzheimer. Lo que hemos expuesto hasta el momento consiste en un fraude científico: deliberadamente hemos omitido mencionar que cuando la GBP se administra en forma repetida no sólo no mejora la memoria sino que provoca un marcado deterioro cognitivo, haciendo que este fármaco no parezca una buena opción terapéutica para la enfermedad de Alzheimer.



PREMIO ANUAL ACCESIT "155º JORNADA CIENTIFICA" - ACCESIT

"Programación fetal de alteraciones en la morfología renal por deficiencia de zinc en ratas"

Por Gobetto MN, Juriol LV, Veiras L, Secchiari F, Costa MA, Arranz C, Tomat AL

Cátedra de Fisiología Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. IQUIMEFA-CONICET.

La deficiencia de zinc durante la vida fetal y postnatal programa elevada presión arterial y alteraciones morfológicas y funcionales renales en la adultez.

Objetivo: Evaluar las alteraciones tempranas en la morfología renal en ratas con restricción dietaria de zinc durante la vida fetal y la lactancia en ambos sexos.

Ratas Wistar recibieron durante la preñez y la lactancia: Dieta control (30 ppm zinc) o baja (8 ppm zinc) en zinc. Crías: macho control (MC), hembra control (HC), macho bajo (MB), hembra baja (HB). A los 21 días se determinó: número de glomérulos, áreas glomerulares y área de pared muscular de arterias renales.

Resultados: MB y HB presentaron menor número de glomérulos, mayores áreas glomerulares y menores áreas de pared muscular de las arterias renales que MC y HC * $p < 0.01$ vs MC; # $p < 0.01$ vs HC, n=6/grupo

	MC	MB	HC	HB
Nº Glomérulos	18110±413	15500±437*	17750±429	15700±718 [#]
Area glomerular Total(µm ²)	3098±61	3717±72 *	2638±67 [#]	3221±130 [#]
Área ovilleo capilar(µm ²)	2284±48	2642±63*	1992± 69*	2427±109 [#]
Area Pared músculoelástica/área de arterias renales(%)	86±1	79±1*	83±2	69±4 [#]

La deficiencia de zinc indujo alteraciones en el proceso nefrogénico con reducción en el número de nefrones y remodelado hipotrófico de las arterias renales. La hipertrofia glomerular compensadora mantendría una adecuada función renal que conduciría a la disfunción renal y al aumento de la presión arterial en la adultez.



ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
Jornadas de la Sección Bioquímica de la Academia
"Fraude científico"

Sala de Conferencias: "Pbro. Antonio Sáenz"

Coordinador: Acad. Carlos A. Gotelli, Secretario: Acad. Alfredo A. Hager

18 de agosto de 2011

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Presidente:	Académico Carlos M. Baratti
Vice-Presidente:	Académico Miguel Ángel Caso
Secretario General:	Académico Gabriel Mato
Pro-Secretario:	Académica Marta Salseduc
Tesorero:	Académico Ronaldo Meda
Pro-Tesorero:	Académico Miguel D'Aquino
Vocales Titulares:	Académico Juan Pablo F. C. Rossi Académico Carlos Gotelli
Vocales Suplentes:	Académico Otmaro Roses Académico Modesto C. Rubio
Revisores de Cuenta:	Académico Alfredo Hager Académico Eloy L. Mandrile Académico Francisco Stéfano

PROGRAMA

10:00 - 13:00 – Exhibición de Posters

14:00 - 14:45 - Prof. Dr. Federico Pégola: *"Bioética y Fraude Científico"*.

14:45 - 15:30 - Acad. Carlos Gotelli: *"Fraude Científico: Inconductas Científicas"*.

15:30 - 16:00 - Corte para Café

16:00 - 16:45 - Prof. Dr. Roberto Castro: *"Análisis Crítico de los Principales Fraudes Científicos"*.

16:45 - 17:15 - MSc Liliana Descalzi: *"Corrección de Defectos Genéticos"*.

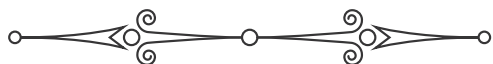
17:15 - 18:00 - Mesa de Debate

“Participación de Bioquímicos y Farmacéuticos en el Conflicto del Atlántico Sur”

Disertante: Alfredo Lo Balbo

RESUMEN:

Argentina padeció una guerra hace 30 años. No existían antecedentes cercanos de medicina de guerra, sin embargo hubo colegas que brindaron sus más preciados servicios y conocimientos para mitigar dolores y aliviar sufrimientos, sobreponiéndose a sus propios temores, a las carencias logísticas y hospitalarias, y a las perturbadoras impresiones, que heridos, mutilados y muertos dejaban en sus memorias. Supieron enfrentar el desafío y lucharon por la vida de sus pacientes con denodado esfuerzo. No son conocidos sus heroicos desvelos en la primera línea de combate, en las arriesgadas evacuaciones expuestas al fuego enemigo, en el tratamiento hospitalario en Puerto Argentino y en el traslado al continente atravesando un cerco aéreo y marítimo implacable. En ocasiones se recurrió a la improvisación para resolver los problemas que iban surgiendo, siendo fundamental tanto las capacidades individuales como la formación académica adquirida. Es la historia de 17 colegas que se desempeñaron en circunstancias inusitadamente terribles, vividas en nuestro territorio nacional, resueltas con valor humano y científico, enmarcadas en la ética para el ejercicio de nuestra profesión. Los relatos trascienden el ámbito nuestro pues serán de interés general, en especial para los profesionales en el campo de las emergencias y catástrofes. Sirva este testimonio para honrar su humanitaria y valiente misión.



“Análisis micrográfico de nueve especies argentinas del género *Lantana*”

Disertante: Albrecht Roxana A., Alberto A. Gurni y

Graciela B. Bassols

Cátedra de Farmacobotánica

roxana_albrecht@yahoo.com.ar

RESUMEN

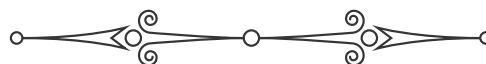
Del género *Lantana* (Verbenaceae) en la Argentina crecen 19 especies, siendo *L. camara* L. (“camará”) la de mayor distribución. Sus hojas se emplean como medicinal (fiebre,

resfríos, reumatismo, etc.).

Se determinaron los caracteres micrográficos de 9 especies del género *Lantana*, para lo cual se analizaron las hojas de *L. cámara*, *L. brasiliensis*, *L. trifolia*, *L. chamissonis*, *L. micrantha*, *L. balansae*, *L. grisebachii*, *L. fucata* y *L. montevidensis*.

Todas las especies presentaron pelos glandulares de cabeza y pie unicelular y pelos simples cistolíticos. También se observaron las siguientes estructuras: pelos unicelulares simples “en colmillo”, pelos unicelulares cortos, pelos unicelulares simples largos rígidos y flexuosos pero no en todas las especies ni en las mismas combinaciones. *L. camara* fue la única que presentó otros tipos de pelos glandulares distintos a los encontrados en las demás especies (cabeza bi- y pie unicelular y cabeza pluri- y pie tricelular).

La presencia de más de un tipo de pelo glandular en *L. camara* es una característica importante para su diferenciación de las otras especies estudiadas. La presencia de distintos tipos de pelos tectores permite distinguir las otras especies entre sí. Se puede concluir que, para este grupo de plantas, los tricomas son una característica a tener en cuenta al analizar



“La inhibición postnatal de óxido nítrico modifica el efecto de la neurotensina sobre la actividad ATPásica.”

Disertante: López Ordieres, G., Kemmling, A.,

Budriesi, P., Rodríguez de Lores Arnaiz, G. IBCN,

CONICET-UBA

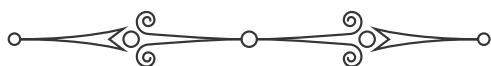
Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y

Bioquímica, UBA.

RESUMEN

El óxido nítrico (NO) puede comportarse como un neurotransmisor o neuromodulador, siendo sintetizado por la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS). Nuestro objetivo consistió en evaluar el efecto de la neurotensina sobre la actividad de Na^+ , K^+ -ATPasa de membranas aisladas de ratas que fueron administradas los días postnatales 3,4 y 5 con solución salina (controles) o con N (ω)-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), un inhibidor de la NOS. Los ensayos se llevaron a cabo empleando animales de ambos sexos de 35 días (ratas jóvenes) y de 56 días (ratas adultas). Estudios de comportamiento revelaron una marcada diferencia en los

animales de distintas edades administrados con L-NAME. La neurotensina en un rango de concentración de 3.5×10^{-8} M - $3,5 \times 10^{-6}$ M produjo una inhibición del 16% -34% de la actividad de Na^+ , K^+ -ATPasa de membranas de animales control, no observándose modificaciones en membranas de animales administrados con L-NAME. Estudios de fijación con [^3H]-ouabaína demostraron que la presencia de neurotensina, producía una disminución de la fijación del 64% a las membranas de animales adultos postnatalmente administrados con L-NAME. En conclusión, postulamos que una disfunción en la producción de NO durante el período

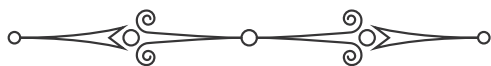


“La gabapentina, un sorprendente fármaco que previene la enfermedad de Alzheimer.”

Disertante: Blake, MG; Boccia MM; Krawczyk MC
Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

RESUMEN:

La gabapentina (ácido 1-aminometil ciclohexanoacético) es un fármaco desarrollado por los Laboratorios Parke-Davis que comenzó a utilizarse originalmente en la clínica como anticonvulsivante, uso aprobado por la FDA en 1993. Más adelante, la FDA aprobó su uso para el tratamiento del dolor neuropático y para el síndrome de las piernas inquietas. Sus acciones terapéuticas son variadas, y ha probado ser útil como ansiolítico, antidepressivo, antimigrañoso y en varios desórdenes neuropsiquiátricos. Luego de casi dos décadas de uso en clínica médica, la gabapentina ha demostrado ser un fármaco con una alta eficacia y un elevado índice de seguridad. Su mecanismo de acción consiste en el bloqueo de los canales de calcio voltaje-dependientes de tipo L, lo que finalmente causa una estimulación del sistema colinérgico central. La vinculación existente entre la reducción de la actividad colinérgica y la progresión de la enfermedad de Alzheimer hicieron de esta droga un buen candidato para su prevención. En el presente trabajo se analizan las acciones de la gabapentina sobre una cepa de ratones triple transgénicos que constituyen un modelo animal de la enfermedad de Alzheimer y un estudio prospectivo sobre el uso de este fármaco en pacientes que se hallan en fase temprana de la enfermedad, demostrando que la gabapentina previene el desarrollo y la progresión de



“Eosina, una sonda fluorescente que permite identificar conformaciones en la Ca^{2+} -ATPasa de membrana plasmática.”

Disertante: Mangialavori, I.; Balbi, A;
Dalghi, M; Ferreira-Gomes, M.

IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

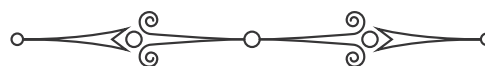
RESUMEN:

La bomba de Ca^{2+} de membrana plasmática (PMCA) es una proteína transmembrana que acopla el transporte de Ca^{2+} hacia el medio extracelular con la hidrólisis de ATP. Su funcionamiento es esencial para el mantenimiento de la baja concentración de Ca^{2+} intracelular.

El objetivo de este trabajo es estudiar cambios conformacionales de la PMCA mediante cambios en la fluorescencia de la eosina Y.

La eosina Y es un potente inhibidor reversible de la PMCA vinculado con el sitio de unión a ATP. Hemos ensayado la acción de eosina sobre una preparación de PMCA purificada de eritrocitos humanos. Los resultados muestran que la incorporación de PMCA al medio con eosina aumenta la fluorescencia y produce una modificación del máximo de excitación de 527 a 534 nm y de emisión de 540 a 546 nm. La incorporación de Ca^{2+} genera un aumento adicional de la fluorescencia. El agregado de 1 mM ATP a un medio con PMCA y 0.05 μM eosina produce una disminución de la fluorescencia al nivel del blanco, tanto en presencia como ausencia de Ca^{2+} . La actividad Ca^{2+} -ATPasa en función de la concentración de eosina mostró una inhibición hiperbólica cuya K_i aumenta con la concentración de ATP.

Los resultados sugieren que la eosina permite medir cambios conformacionales de la PMCA inducidos por ATP y Ca^{2+} lo que permitiría seguir las variaciones estructurales durante el transporte de Ca^{2+} mediante medidas de fluorescencia en tiempo real.



“El entorno lipídico modifica la actividad ATPasa de la bomba de calcio de membrana plasmática.”

Disertante: M. Florencia Pignataro

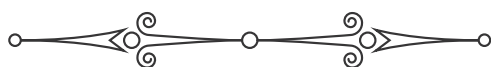
e Irene Mangialavori

IQUIFIB, UBA-CONICET

RESUMEN:

La bomba de calcio de membrana plasmática (PMCA) es una proteína multirregulada que remueve activamente Ca^{2+} hacia el medio extracelular. Posee una región en contacto con lípidos con 10 hélices transmembrana y una región citoplasmática donde se encuentran los sitios de interacción con los principales moduladores de la bomba como calmodulina (CaM), fosfolípidos ácidos y ácidos grasos insaturados. El objetivo del presente trabajo es estudiar (1) el impacto de la variación de los lípidos del entorno sobre la actividad ATPasa de la PMCA y (2) la interacción de la misma con el ácido oleico, mediante un análogo fotoactivable (AS86).

Los resultados obtenidos muestran que: 1) la actividad Ca^{2+} ATPasa es 30% menor cuando se pone en contacto a la proteína con dioleilfosfatidilcolina o con lípidos extraídos de la membrana de glóbulo rojo, con respecto a la incubación con dimiristoilfosfatidilcolina. 2) los valores de $K_{0.5}$ obtenidos para cada lípido resultaron similares (0.006 nmol/ μ l) 3) El AS86 presenta un comportamiento dual, cuando interacciona no covalentemente activa la enzima como el ácido oleico, mientras que su unión covalente produce la inhibición de la activación por CaM a bajas concentraciones y afecta la actividad basal de la bomba a concentraciones mayores. Esto muestra como la composición de los lípidos circundantes a una proteína de membrana puede modificar su estructura y su función.



“Programación fetal de alteraciones en la morfología renal por deficiencia de zinc en ratas”

Disertante: Gobetto MN, Juriol LV, Veiras L,

Secchiari F, Costa MA, Arranz C, Tomat AL

Cátedra de Fisiología Facultad de Farmacia y

Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

IQUIMEFA-CONICET.

RESUMEN:

La deficiencia de zinc durante la vida fetal y postnatal programa elevada presión arterial y alteraciones morfológicas y funcionales renales en la adultez.

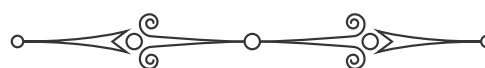
Objetivo: Evaluar las alteraciones tempranas en la morfología renal en ratas con restricción dietaria de zinc durante la vida fetal y la lactancia en ambos sexos.

Ratas Wistar recibieron durante la preñez y la lactancia: Dieta control (30 ppm zinc) o baja (8 ppm zinc) en zinc. Crías: macho control (MC), hembra control (HC), macho bajo (MB), hembra baja (HB). A los 21 días se determinó: número de glomérulos, áreas glomerulares y área de pared muscular de arterias renales.

Resultados: MB y HB presentaron menor número de glomérulos, mayores áreas glomerulares y menores áreas de pared muscular de las arterias renales que MC y HC * $p < 0.01$ vs MC; # $p < 0.01$ vs HC, n=6/grupo

	MC	MB	HC	HB
N° Glomérulos	18110±413	15500±437*	17750±429	15700±718*
Área glomerular Total(μ m ²)	3098±61	3717±72 *	2638±67*	3221±130*
Área ovilleo capilar(μ m ²)	2284±48	2642±63*	1992± 69*	2427±109*
Área Pared músculoelástica/área de arterias renales(%)	86±1	79±1*	83±2	69±4*

La deficiencia de zinc indujo alteraciones en el proceso nefrogénico con reducción en el número de nefrones y remodelado hipotrófico de las arterias renales. La hipertrofia glomerular compensadora mantendría una adecuada función renal que conduciría a la disfunción renal y al aumento de la presión arterial en la adultez.





Actividades Académicas 2011

Acta Asamblea Ordinaria Anual del 28 de Abril de 2011

Inicio: 17:30 hs.

Presentes: Acad. Albónico, Añón, Baratti, Brenner, Caffini, Carducci, Caro, Caso, D'Aquino, De Paoli, Gutkind, Hajos, Mato, Meda, Mandrile, Nacucchio, Rossi, Roses, Rubio, Salseduc, Santomé, Stéfano, Wikinski. Total veintitrés (23)

Académicos Correspondientes: Squassini, Salibian Total dos (2)

Ausentes: Acad. Biscoglio, Boveris, Bregni, Gaozza, Rondina, Poskus, Sordelli
Total siete (7)

Ausentes con aviso: Acad. Díaz, Giuliani, Gotelli, Hager, Los.
Total cinco (5)

- Se designa a los Acad. Baratti y Mato, miembros de la Asamblea Ordinaria, para refrendar con las suyas, las firmas de las autoridades.
- Se da lectura y aprueba la Memoria correspondiente del año 2010.
- Se da lectura y aprueba el Balance e Inventario del Ejercicio 2010.
- Se da lectura y aprueba el Acta de la Comisión Receptora y Escrutadora de votos del Acto Eleccionario realizado el día de la fecha, validez del Acto y proclamación del resultado.

Resultan electos los integrantes de la única lista, "Cartagena", por veintidós (22) votos a favor, 1 (uno) abstención sobre un total de veintitrés (23) votos emitidos.

Vicepresidente: Acad. Miguel A. Caso

Prosecretario: Acad. Marta M. Salseduc

Protesorero: Acad. Miguel D'Aquino

Vocal Titular: Carlos A. Gotelli

Vocal Suplente: Acad. Otmaro E. Roses

Revisores de Cuentas: Acad. Alfredo A. Hager
Acad. Eloy L. Mandrile
Acad. Francisco Stéfano

Apoderado: Modesto C. Rubio.

<u>Cargo</u>	<u>Consejo Directivo Durante Período Anterior</u>	<u>Consejo Directivo Electo (2011-2012)</u>
<u>Presidente:</u>	Acad. Carlos M. Baratti	Acad. Carlos M. Baratti
<u>Vicepresidente:</u>	Acad. Miguel A. Caso	Acad. Miguel A. Caso
<u>Secretario General:</u>	Acad. Gabriel Mato	Acad. Gabriel Mato
<u>Prosecretario:</u>	Acad. Miguel D'Aquino	Acad. Marta M. Salseduc
<u>Tesorería:</u>	Acad. Ronaldo Meda	Acad. Ronaldo Meda
<u>Protesorero:</u>	Acad. Eloy Mandrile	Acad. Miguel D'Aquino
<u>Vocal Titular:</u>	Acad. Juan. P Rossi Acad. Luis Diaz	Acad. Carlos A. Gotelli
<u>Vocal Suplente:</u>	Acad. O. Roses Acad. Modesto C. Rubio	Acad. Otmaro E. Roses
<u>Revisores de Cuentas:</u>	Acad. Alfredo A. Hager Acad. J. Santomé Acad. Francisco Stéfano	Acad. Alfredo A. Hager Acad. Eloy L. Mandrile Acad. Francisco Stéfano

• La votación por la Reforma del artículo 34 del Reglamento obtuvo dieciocho (18) votos a favor, uno (1) abstención, y uno (1) negativo. Aprobándose la reforma propuesta

Cierre: 19.15 hs.



Actividades Académicas 2011

**Seminario “Intoxicaciones Medicamentosas”
20 de octubre de 2011
Buenos Aires – ARGENTINA**

PROGRAMA

15.00 - 15.30: Dr. Oscar Locani “*Análisis de Medicamentos*”

15:30 - 16:00: Dra. Ana María Perkins “*Preparaciones Magistrales Anorexígenas. Consecuencias para la Salud*”

16:00 - 16:30: Corte para Café

16:30 - 17:00: Dr. José Luis Lorenzo “*Red de Laboratorios de Toxicología en las Intoxicaciones medicamentosas*”

17:00-17:30: Acad. Manuel R. Limeres “*Medicamentos Ilegítimos*”

17:30 - 18:00: Mesa de Debate



SIMPOSIO BIOQUIMICA AMBIENTAL

“Los Biomarcadores como herramientas de la Ecotoxicología”

Organización: Sección Ciencias Bioquímicas:

Coordinador: Acad. Alfredo Salibián

10 de noviembre de 2011

Sala de Conferencias: “Pbro. Antonio Sáenz - Junín 956, Buenos Aires.

PROGRAMA

14:00 - 14:10: Palabras de Bienvenida del Sr. Presidente de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica
Dr. Carlos M. Baratti

14:10 - 14:20: *Bioquímica Ambiental y Ecotoxicología modelo siglo XXI: nuevos caminos y desafíos.* **Prof. Dr. Alfredo Salibián**

14:20 - 14:35: *Esteroides y diferenciación sexual en el pejerrey bonaerense. Impacto de los disruptores endocrinos.*
Prof. Dr. Gustavo Somoza

14:35 - 14:50: *Uso de biomarcadores en organismos acuáticos en la evaluación de impacto de agroquímicos en el Alto Valle del Río Negro.* **Prof. Dr. Andrés Venturino**

14:50 - 15:05: *Revisión y análisis de casos de estudios ecotoxicológicos realizados en el Centro de Investigaciones del Medio Ambiente.*
Prof. Dra. Alicia E. Ronco

15:05 - 15:20: *Mecanismos de inmunotoxicidad dependientes del receptor de aryl hidrocarburo (AhR) y la vía de señalización NF- κ B.*
Prof. Dr. Guillermo Blanco

15:20 - 15:30: Intervalo

15:30 - 15:40: *Fármacos en el ambiente.* **Lic. Yanina Elorriaga**

15:40 - 15:50: *Biomarcadores de peces nativos y estandarizados: ensayos de campo como herramienta diagnóstica de la calidad de tres ríos periurbanos de la Prov. de Buenos Aires.* **Dr. Fernando R. de la Torre**

15:50 - 16:00: *Exposición ambiental a plaguicidas: biomarcadores en matrices no invasivas en el desarrollo intrauterino y la infancia.*
Dra. María G. Rovedatti

16:00 - 16:10: *“Jenynsia multidentata” (Anablepidae, Cyprinodontiformes): Una especie centinela en aguas argentinas.*
Dra. María V. Amé

16:10 - 16:20: *La Glicoproteína-P como un potencial biomarcador de exposición a xenobióticos.* **Dr. Fabricio D. Cid**

16:20 - 16:30: *Efectos de los andrógenos antropogénicos en la gonadogénesis del pejerrey.* **Dr. Juan I. Fernandino**

16:30 - 16:45: Mesa de Debate

16:45 - 17:00: Acto de entrega de Premios 2009 - 2010 de la Academia.

BIOQUIMICA AMBIENTAL Y ECOTOXICOLOGÍA MODELO SIGLO XXI:

NUEVOS CAMINOS Y DESAFÍOS.

Alfredo Salibián

Introducción.

Hace casi 35 años, Truhaut (1977) definía la Ecotoxicología de esta manera: *... is the branch of Toxicology concerned with the study of toxic effects, caused by natural or synthetic pollutants, to the constituents of ecosystems, animal (including man), vegetable and microbial, in an integrated context.* Actualmente, esa rama de la Ciencia es reconocida como una disciplina que está encaminándose hacia la categoría de “madura”, autónoma, cuyo objetivo es la organización e integración del conocimiento referido al destino y los efectos de los tóxicos en los ecosistemas (Newman, 1996; Newman y Clements, 2008).

Es en el marco de aquella temprana definición de Truhaut que hoy ubicamos a la Bioquímica Ambiental, orientando nuestra presentación en dirección del objetivo tecnológico de la Ecotoxicología, esto es, el desarrollo y la efectiva aplicación de herramientas y procedimientos conducentes a una acabada comprensión del destino y de los efectos de los tóxicos –mayormente sustancias químicas generadas por las acciones antrópicas– una vez que se incorporan a los diferentes compartimientos de los organismos y, en una fase posterior, de los ecosistemas.

En el siglo XX los protocolos de monitoreo para la evaluación de los peligros y riesgos (estos últimos, como un parámetro probabilístico) asociados al uso y dispersión y consecuente exposición de las sustancias químicas (*o estresores*) en los compartimientos ambientales estuvieron orientados mayormente, hacia bioensayos de toxicidad que permitían alcanzar expresiones cuantitativas de sus efectos adversos, en el amplio espectro que va desde los subletales hasta los letales, aunque en muchos casos sin aportes significativos al conocimiento de sus mecanismos de acción.

Además, esos protocolos exhibían una seria limitación: los resultados se alcanzaban con frecuencia sobre mode-

los inespecíficos de laboratorio, bajo condiciones controladas; por ello, su utilidad era sólo preliminar y restringida ya que sus resultados podían ser fácilmente extrapolables entre diferentes especies test y, menos aún, a las condiciones del mundo real, caracterizado por una cantidad de factores de complejidad, incertidumbre y variabilidad, los que, a su vez, obligaban a considerar supuestos o a incorporar en los cálculos índices de corrección más o menos arbitrarios, en un intento por integrar y estimar cuantitativamente las mayores incertezas, inherentes al método utilizado; estos aspectos de la Ecotoxicología, operativos, se hallan actualmente en intenso debate (véase Jager *et al.*, 2006). Lo antedicho, no puede negar que esas técnicas bioanalíticas, a pesar de sus limitaciones, eran las mejores entre las disponibles, y jugaron un importante papel en el desarrollo histórico de la Ecotoxicología.

Es interesante que en el VIII Congreso de la International Union of Toxicology (IUTOX), celebrado en París en las postrimerías del siglo XX (1998), su Presidente el Dr. I.F.H. Purchase, “profetizaba” en la conferencia inaugural, que en los años por venir seríamos testigos de algunos eventos. En esa oportunidad afirmó que seríamos testigos de rápidos avances científicos, que aumentaría la demanda de evaluación de riesgo ambiental de la biotecnología, crecería la preocupación pública por los riesgos asociados a las sustancias químicas y a las técnicas de ingeniería genética, y que la evaluación de riesgo (ambiental y sanitario) sería reclamada internacionalmente; para el *ámbito de la Toxicología* en particular anticipaba, entre otros aspectos, que nos esperaban transformaciones tecnológicas gracias a los avances en la Genómica y la Biología Molecular y que la interpretación mecanística de la toxicidad sería la norma.

Confirmando algunos de los anticipos de Purchase, en este inicio del nuevo siglo los métodos disponibles están ganando en precisión y predictibilidad gracias a los avances

que aportan variados desarrollos tecnológicos que abrieron las puertas para diseñar e incorporar nuevas técnicas, de mayor capacidad, sensibilidad y precisión, así como a los conocimientos básicos aportados desde diferentes ramas de la Ciencia.

Sin embargo, hemos de reconocer que carecemos aún de antecedentes suficientes y firmes que permitan entender cabalmente el modo en que los cambios adversos que se registran en las variables celulares o tisulares pueden ser extrapolados a niveles de organización biológica mayor (por ejemplo, organismo o población) (véase *Celander et al., 2011*). Resolver esta limitación de la Ecotoxicología no será tarea sencilla pero sí crítica para alcanzar evaluaciones de riesgos ambientales con mayor precisión.

Las Ciencias Bioquímicas y Biológicas en particular, especialmente la primera, proveyeron las bases para un conocimiento más detallado de la naturaleza básica y la comprensión más acabada de los mecanismos subyacentes en los niveles primarios de organización que pueden ser blancos de tóxicos y contaminantes, sean éstos naturales o xenobióticos. Este avance se logró con los aportes de nuevas especialidades que han adquirieron identidad en fechas recientes, en particular la Biología Molecular, que genéricamente agrupamos como las *ómicas*, principalmente las involucradas en la transferencia subcelular de información; de ellas destacamos la genómica, transcriptómica, proteómica, y metabolómica (García-Reyero y Perkins, 2011, Timbrell, 2009). Consideradas en conjunto, podemos afirmar que están contribuyendo significativamente a una más acabada comprensión de los mecanismos de la toxicidad de los contaminantes y de las causas primeras de sus efectos adversos así como a una mayor precisión en la evaluación de riesgos ambientales y sanitarios (Hahn, 2011).

La genómica se enfoca en los efectos de los tóxicos sobre el ADN nuclear; la *transcriptómica* intenta describir y explicar los impactos de los tóxicos en la síntesis y transporte de los ARNm; la *proteómica* apunta a los efectos de los proteotóxicos sobre la dinámica (abundancias relativas, cambios estructurales, interferencias e interacciones) de los eventos que ocurren en el pool de proteínas subcelulares, especialmente las de detoxificación. Finalmente, la *metabolómica* completa el cuadro, con el balance complementario global de lo referente a las alteraciones metabólicas de las células, secundarias a su exposición a un tóxico, entre las cuales se destacan los cambios en la dinámica energética (celular o tisular) (véase *Johnson et al., 2012; Kaddurah-Daouk et al., 2008*).

En este punto no podemos obviar la mención a los avances registrados en la Bioquímica de los receptores de

xenobióticos nucleares que “monitorean” selectivamente el medio intracelular y coordinan los cambios y respuestas compensatorias requeridas (por ejemplo, de la expresión génica) para abordar los efectos de la exposición a mezclas de xenobióticos (Omiecinski *et al.*, 2011).

En el contexto de esta presentación, las *ómicas* se han constituido en los soportes de la *Ecotoxicogenómica*, una rama relativamente nueva de la Ecotoxicología, que propone transitar caminos alternativos a los que hemos frecuentado hasta ahora (como la Bioenergética, la Fisiología Bioquímica o la Toxicología Molecular). Se trata de describir ciertos nodos (genes, proteínas o metabolitos) y funciones biológicas clave, ordenados en redes de interacción que pueden ser impactados por estresores ambientales, habilitando elementos que se integran y reconocen como el fundamento de la *reverse-engineering*, esta última como técnica que incorpora métodos estadísticos para inferir redes de conectividad asociadas a efectos adversos expresados en complejos conjuntos de datos (Perkins *et al.*, 2011).

Complementando a la Ecotoxicogenómica, están los ineludibles aportes de la Bioinformática y la Biología Computacional¹ con las cuales si bien la relación todavía es distante, vislumbramos que contribuirán a mejorar significativamente la capacidad del Bioquímico Ambiental para diagnosticar, manejar, integrar y organizar conjuntos de datos experimentales cada vez mayores y más complejos.

No obstante lo anterior, si bien hemos adelantado en la capacidad de caracterizar, entender y clasificar con más precisión que en el pasado no muy lejano los mecanismos bioquímicos subyacentes en la toxicidad de muchas entidades químicas, la realidad de hoy nos enfrenta con un desbalance cuantitativo originado en el incremento exponencial de la cantidad y variedad estructural de las sustancias que se detectan en los múltiples compartimientos ambientales, en la diversidad y simultaneidad de los impactos que se deben monitorear y -consecuentemente- en la insuficiente masa de datos disponibles referidos a sus riesgos ecotoxicológicos. Tal es el caso, por ejemplo, del explosivo desarrollo de la *Nanotoxicología* (Kahru y Dubourguier, 2010), una nueva disciplina derivada de la Nanotecnología, que por ahora se localiza en la intersección de la Ciencia de los Materiales, con aportes de Física, la Química, la Biología, la Medicina y la Toxicología (en sus variadas vertientes), orientada al estudio de los impactos sanitarios adversos de los nanomateriales. Cuando consideramos a estos materiales en el marco de lo ambiental, esto es, cuando los detectamos en los compartimientos ecosistémicos, incluido el aire, advertimos que hemos

¹*Bioinformática*: aplicación de la Informática para integrar y organizar datos biológicos complejos y diversos.

Biología Computacional: técnica que recurre a modelos matemáticos que permiten la comprensión y predicción de las respuestas que pueden registrarse en los sistemas biológicos sometidos a cambios o perturbaciones de entorno.

de estar preparados para abordar nuevas problemáticas y técnicas analíticas que por ahora las ubicaremos en la carpeta particular de la *Nanoecotoxicología*, advirtiendo que por sus características, propiedades fisicoquímicas y cinéticas (ambientales y biológicas), pueden desencadenar efectos adversos y tóxicos que recién estamos entendiendo y aprendiendo cómo atenderlos².

No podemos ignorar el hecho de que la presión social en torno a los temas de la contaminación ambiental es creciente. Es esperable que los avances que la Bioquímica Ambiental ha de lograr con el imprescindible aporte desde otras especialidades (como las que mencionamos más arriba), permitirán a los funcionarios de gestión ambiental, legisladores y políticos, asumir sus responsabilidades y decisiones con mayor precisión y confiabilidad.

Los desafíos.

El escenario que asoma ante nosotros en este tiempo de transición de un siglo al siguiente, anticipa y advierte que aquél paradigma de la evaluación de riesgo ambiental y sanitario con el aporte de las herramientas y la información aportadas por la Bioquímica debe ser revisitado y revisado. Es que estamos asistiendo al nacimiento de un nuevo paradigma innovador que apuntará, por lo menos, a reconsiderar la información mecanística, esta vez integrando los datos que hemos generado y utilizado hasta ahora, con *datos alternativos*, esto es, por ejemplo, los efectos bioquímicos de toxicidad a nivel suborganísmico, respuestas *in vitro*, biomarcadores, o –como anticipamos– los mecanismos protectores iniciales que pueden describir y aportar diferentes *ómicas*. Por ejemplo: la activación de factores nucleares de transcripción puede estimular una coordinada síntesis de enzimas, *binding proteins*, y transportadores de membrana que detoxifican, secuestran y/o eliminan sustancias extrañas; otro tanto puede ocurrir cuando se trata de daños celulares que pueden ser reparados.

También sabemos ahora de la importancia de los polimorfismos genéticos condicionantes de susceptibilidades diferenciales para tóxicos particulares o, como contrapartida, la homología entre varias especies del aparato genético asociado a mecanismos críticos como la síntesis de esteroides. Y también hemos de familiarizarnos –reiteramos– con las herramientas provistas por la Biología Computacional y la Bioinformática que, permitiéndonos acumular y ordenar en forma racional los datos disponibles (y posiblemente subutilizados), vendrán en nuestro auxilio mediante modelos predictivos, que contribuirán en ahorros de tiempo y recursos.

Necesitaremos esforzarnos para entender, en pormenorizado detalle bioquímico, cómo un estresor tóxico ambiental desencadena en el sistema eco-biológico afectado una secuencia de efectos adversos, interfiriendo en procesos celulares básicos y, en una fase posterior, cuál es el impacto amplificado de esas perturbaciones en los niveles de organización biótica mayores, cuáles son y cómo cuantificar con rigor las incertezas, cuáles son los mecanismos de *acomodación* como respuesta a un estresor externo que puede operar a diversos niveles (celular, organismo, población) con el resultado de restaurar un particular sistema alterado a su condición basal, aún a pesar de no interrumpirse el contacto con el tóxico; estos mecanismos se diferencian de los de *adaptación* que son considerados en un marco evolutivo (véase Nichols *et al.*, 2011; Stapley *et al.*, 2010).

Al respecto, cabe señalar que una de las exigencias propias de las evaluaciones ecotoxicológicas demanda conocer previamente los mecanismos de homeostasis y de *allostasis* que, con frecuencia pueden ser afectados por los tóxicos en sus fases estresoras iniciales. Los primeros hacen referencia a los precisos controles fisiológicos que regulan cualidades fisicoquímicas del medio interno del organismo (por ej. osmolaridad o presión parcial de oxígeno) o la concentración de sustancias endógenas (por ej. glucosa, pH); la *allostasis* se refiere a las alteraciones que pueden ocurrir en los mecanismos regulatorios como los cambios en la concentración de una molécula endógena (por ej. el de un ligando específico para una macromolécula receptora) o en el *set-point* de parámetros fisiológicos particulares (por ej. presión sanguínea, frecuencia cardíaca).

Y también debemos incluir en nuestros objetivos futuros, el desarrollo de nuevas herramientas y modelos (que se añadirán o perfeccionarán los disponibles como los QSAR, *quantitative structure-activity relationships*) que permitirán extrapolaciones confiables y anticipaciones predictivas. En línea con esto, algunos colegas ya han incorporado en sus proyectos, programas y textos a la *Ecotoxicología predictiva* (Villeneuve y Garcia-Reyero, 2011); este nuevo Capítulo de la Ecotoxicología integra la información proveniente de modelos complementarios que lo enriquecen; destacamos los siguientes: *Biologically-based dose-response* (BBDR), *Physiologically-based Toxicogenetics* (PBTG) y *Physiologically-based Pharmacokinetic Modelling* (PBPK); todos ellos, a su vez, se robustecen cuando se los acopla a otras herramientas bioquímicas más recientes, como el secuenciamiento y los catálogos de ADNs, o la precisa identificación de proteínas reguladoras clave de las fases dinámicas y las cinéticas de los tóxicos (véase Blaauboer, 2003).

² Cabe mencionar que la presencia de nanomateriales en el ambiente puede ser consecuencia de su utilización en tecnologías de remediación de ecosistemas alterados

Entendemos que los Bioquímicos Ambientales de este tiempo hemos de involucrarnos en la comprensión íntima, suborganísmica, de los mecanismos de acción de los tóxicos. Alcanzar este objetivo no será fácil, pero podrán venir en nuestro auxilio datos acumulados en el pasado, o los provistos por el comportamiento, debidamente contextualizados, de biomarcadores seleccionados, específicos, de exposición o efecto, así como los modelos predictivos que mencionamos más arriba. En suma, nos espera un tiempo que demandará estar preparados para contribuir desde la nuestra especialidad, al estudio de la secuencia de eventos tóxicos a partir de las fases moleculares iniciales y hasta las manifestaciones últimas de los efectos adversos, procurando describir el mapa de un largo y, a veces, tortuoso camino, describiendo y asociando todos los eventos intermedios que puedan ser registrados entre esos extremos.

Es oportuno añadir en este punto que no se trata solamente de interpretar cuali y cuantitativamente, desde la Bioquímica, las interferencias funcionales atribuibles a la toxicidad de una sustancia o una mezcla de ellas; también será importante transitar el camino en dirección inversa, esto es, investigando los mecanismos subyacentes para la recuperación de las funciones que han sido afectadas, para determinar los grados de reversibilidad de los efectos adversos, para la restauración de las condiciones originales o para descubrir mecanismos de adaptación que pueden habilitarse secundariamente a la exposición al tóxico o cuando la misma ha cesado.

Finalmente, debe quedar claro que no visualizamos a los bioquímicos como investigadores abocados, en soledad, al estudio innovativo de algunas de las problemáticas de la Ecotoxicología moderna; por el contrario, la multi- e interdisciplinariedad de los enfoques acortará el camino para alcanzar las metas científicas que nos hemos propuesto como contribuciones al desarrollo y vitalidad de la Ecotoxicología (científica y práctica).

Bibliografía citada

Blaauboer BJ (2003) - The integration of data on physico-chemical properties, in vitro-derived toxicity data and physiologically based kinetic and dynamic as modeling a tool in hazard and risk assessment. A commentary - *Toxicol Lett* 138: 161-171.

Celander MC, Goldstone JV, Denslow ND et al (2011) - Species extrapolation for the 21st century - *Environ Toxicol Chem* 30: 52-63.

García-Reyero N, Perkins EJ (2011) - Systems Biology: leading the revolution in Ecotoxicology - *Environ Toxicol Chem* 30: 265-273.

Hahn ME (2011) - Mechanistic research in aquatic toxicology: perspectives and future directions - *Aquat Toxicol* 105: 67-71.

Jager T, Heugens EHW, Kooijman SALM (2006) - Making sense of ecotoxicological test results: towards application of process-based models - *Ecotoxicology* 15: 305-314.

Johnson CH, Patterson AD, Idle JR, Gonzalez FJ (2012) - Xenobiotic metabolomics: major impact on the metabolome - *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 52: 37-56.

Kaddurah-Daouk R, Kristal BS, Weinsilboum RM (2008) - Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease - *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 48: 653-683.

Kahru A, Dubourguier HC (2010) - From Ecotoxicology to Nanoecotoxicology - *Toxicology* 269: 105-119.

Newman MC (1996) - Ecotoxicology as a Science. In: Newman MC, Jagoe CH (Eds), *Ecotoxicology. A hierarchical treatment*. CRC-Lewis Publishers. Boca Raton, FL. Pp. 1-9.

Newman MC, Clements WH (2008) - *Ecotoxicology. A Comprehensive Treatment*. CRC Press. Boca Raton, FL.

Nichols JW, Breen N, Denver RJ et al (2011) - Predicting chemical impacts on vertebrate endocrine systems - *Environ Toxicol Chem* 30: 39-51.

Omicinski CJ, van den Heuvel JP, Perdew GH, Peters JM (2011) - Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities - *Toxicol Sci* 120 (S1): S49-S75.

Perkins EJ, Chipman JK, Edwards S et al (2011) - Reverse engineering adverse outcome pathways - *Environ Toxicol Chem* 30: 22-38.

Stapley J, Reger J, Feulner PGD, Smadja C et al (2010) - Adaptation genomics: the next generation - *Trends Ecol Evol* 25: 705-712.

Truhaut R (1977) - Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives - *Ecotoxicol Environ Saf* 1: 151-173.

Villeneuve DL, García-Reyero N (2011) - Predictive Ecotoxicology in the 21st Century - *Environ Toxicol Chem* 30: 1-8.

Resúmenes de las Presentaciones

Jenynsia Multidentata (Anablepidae, Cyprinodontiformes):

Una Especie Centinela En Aguas Argentinas

Amé, MV¹; Hued, AC²; Ballesteros, ML²; Guyón, NF²; Roggio, MA²; Monferrán, MV³; Pesce, SF¹; Wunderlin, DA³ y Bistoni, MA²

1.Universidad Nacional de Córdoba - Facultad de Ciencias Químicas, Dto. Bioquímica Clínica - CIBICI - CONICET. Córdoba, Argentina. vame@fcq.unc.edu.ar

2.Universidad Nacional de Córdoba - Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Cátedra de Diversidad Animal II. Córdoba, Argentina.

3.Universidad Nacional de Córdoba - ISIDSA (Instituto Superior en Investigación Desarrollo y Servicio de Alimentos) - Secretaría de Ciencia y Técnica. Córdoba, Argentina.

Jenynsia multidentata (Anablepidae, Cyprinodontiformes) es un pez vivíparo autóctono que presenta una amplia distribución neotropical, habitando desde la provincia de Río Negro (Argentina) hasta Río de Janeiro (Brasil).

Estudios realizados sobre ensambles de peces en el río Suquia mostraron su presencia tanto en sitios prístinos como con alto grado de contaminación. Esta característica sumada a su alta abundancia en ríos de la provincia de Córdoba, y la facilidad con la que pueden ser transportados y mantenidos en laboratorio propician la utilización de estos organismos como centinelas de contaminación acuática. Sin embargo, el uso de un nuevo organismo indicador requiere de estudios previos para conocer diversos aspectos de su biología como así también conocer sus respuestas biológicas medibles (biomarcadores) al ser expuesto a un tóxico en estudio.

Nuestro grupo de trabajo comenzó por realizar ensayos de laboratorio con el fin de evaluar la respuesta de biomarcadores de exposición y de efecto frente a distintos contaminantes.

A través de exposiciones durante 24 h a lindano se demostró que concentraciones superiores a 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ activan la enzima Glutación S-Transferasa (GST), inhibiéndose esta actividad a 75 $\mu\text{g L}^{-1}$. Coincidentemente, se observó un aumento en la velocidad de acumulación del pesticida en *J. multidentata* desde el momento en que se observó la inhibición enzimática. El análisis histopatológico mostró daños fisiológicos reversibles a bajas dosis que se transformaron en daños severos a mayores concentraciones incluyendo fibrosis hepática y presencia de núcleos carioplásticos en cerebro de los individuos expuestos.

En condiciones similares se realizó la exposición de *J. multidentata* a 1,2 y 1,4 Diclorobencenos (DCB) midiendo la respuesta de enzimas antioxidantes así como la determinación de sustancias reactivas con Acido Tiobarbitúrico en

hígado, branquias y cerebro. Los resultados obtenidos permitieron concluir que 1,2 DCB sería más tóxico que 1,4 DCB para *J. multidentata*. El cerebro resultó el órgano más afectado por el estrés oxidativo asociado a la presencia de estos compuestos.

El efecto de Endosulfán sobre esta especie fue estudiado en profundidad; demostrando su incorporación, distribución y metabolismo en distintos órganos a distintas concentraciones (desde 0.072 a 1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$). En el mismo rango de concentraciones, se comprobó la activación de enzimas antioxidantes principalmente en hígado y branquias y una disminución en la actividad natatoria dentro de las 24 h de exposición a 1,4. $\mu\text{g L}^{-1}$.

La incorporación, distribución y acumulación en *J. multidentata* también fueron estudiadas para las cianotoxinas, en particular para Microcistina-RR. Por ensayos de laboratorio se observó la acumulación en hígado branquias, músculo y cerebro. El efecto de esta exposición aumentaría la actividad natatoria de estos organismos a bajas concentraciones y la disminuiría a altas concentraciones, coincidente este último resultado con la activación de GST, enzima involucrada en la detoxificación de estos compuestos.

Variaciones en la expresión de la P-glicoproteína asociada al Sistema de Resistencia a Multixenobióticos en *J. multidentata* fue demostrado para Microcistina-LR por PCR en tiempo real y Western Blot. Para ello identificamos previamente la secuencia parcial del gen y estudiamos la expresión basal del sistema en este organismo. La importancia de este estudio radicó no sólo incorporar una respuesta biológica plausible de ser utilizada como biomarcador, sino demostrar la presencia de un sistema de resistencia a variados compuestos que podría explicar la capacidad de *J. multidentata* para sobrevivir en ambientes de alta contaminación.

Estos resultados obtenidos en bioensayos indicando a *J. multidentata* como una posible especie centinela de la contaminación acuática fueron reforzados por un estudio realizado a campo, sobre el río Suquia.

Para este trabajo se monitorearon 5 sitios ubicados a lo largo del río durante 2 años analizando en todos ellos la calidad fisicoquímica del agua, el contenido de metales en agua y sedimentos y la actividad de enzimas antioxidantes en distintos órganos de *J. multidentata*. La intensidad de la respuesta de los biomarcadores utilizados mostró una buena correlación con los distintos niveles de contaminación presentes en el río. El uso conjunto de variables biológicas y fisicoquímicas tradicionales del análisis de aguas permitió caracterizar integralmente cada tramo del río Suquia estudiado.

Frecuentemente, los biomarcadores son clasificados como específicos e inespecíficos. El uso de biomarcadores específicos de un tóxico o un grupo de tóxicos es nuestro próximo desafío.

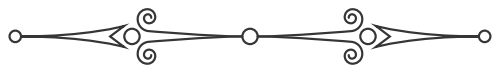
Conociendo la presión antrópica que sufren los ríos de Córdoba comenzamos a desarrollar las técnicas necesarias para medir biomarcadores asociados a la presencia de disruptores endócrinos. Se ha observado que determinados tóxicos afectan la expresión y/o actividad de la enzima esteroideogénica aromatasa P450 (CYP19a), que cataliza la conversión de andrógenos C-19 en estrógenos C-18. En *J. multidentata* hemos identificado la secuencia parcial de dos isoformas: Cyp19a1a de expresión predominantemente en gónadas y Cyp19a2b de expresión predominantemente en cerebro. La exposición de machos de *J. multidentata* a concentraciones ambientalmente relevantes de 17 β -estradiol durante 28 días mostró no sólo un aumento en la expresión de la isoforma cerebral sino alteraciones en otros parámetros indicativos de la biología reproductiva de *J. multidentata* como la conducta reproductiva y la calidad del espermatozoide.

Cambios en la actividad sexual masculina de *J. multidentata*, sumado a alteraciones histológicas en hígado y branquias se observaron en respuesta a la exposición a una formulación comercial de glifosato.

Los efectos de otros contaminantes ambientales sobre estas respuestas biológicas necesitan aún ser estudiados en bioensayos para poder luego evaluar su utilidad en monitoreos de campo.

Futuros estudios que permitan avanzar en el conocimiento de la respuesta de biomarcadores específicos e inespecíficos en *J. multidentata*, confirmarían que estos organismos son una potencial especie centinela de la contaminación acuática de ríos de regiones neotropicales.

Palabras clave: biomarcadores específicos e inespecíficos, río Suquia, peces.



Mecanismos De Inmunotoxicidad Dependientes Del Receptor De Aryl Hidrocarburo (Ahr) Y La Vía De Señalización Nf- κ B

Blanco, Guillermo A

Laboratorio de Inmunotoxicología (LaITo), IDEHU - CONICET - UBA, Junin 956 4to piso, Capital Federal (1113), Argentina. Email: gblanco@ffyb.uba.ar

El receptor de aryl hidrocarburo (AhR) es un miembro de una familia de proteínas que actúan como factores de

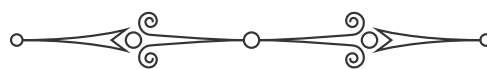
transcripción conocida como hélice-bucle-hélice básica /Per-Arnt-Sim (bHLH/PAS). En vertebrados es un receptor de hidrocarburos aromáticos planares como 3-metilcolantreno, benzo-a-pireno, 2,3,7,8 dibenzo p dioxina (TCDD) y otros hidrocarburos polihalogenados y polibrominados. Los genes de la vía de señalización de AhR son conservados en animales acuáticos de acuerdo a estudios filogenéticos con secuencias de genes obtenidas de bivalvos, anfibios, teleosteos y mamíferos. Sin embargo la capacidad de unión del AhR a hidrocarburos planares como las dioxinas habría sido una adquisición evolutiva de los cordados. No se ha demostrado que los ortólogos identificados en bivalvos, insectos y nematodos puedan unir TCDD u otros hidrocarburos planares. Estos ligandos constituyen importantes contaminantes ambientales antropogénicos. En particular TCDD es el ligando más potente del AhR y es conocido por su elevada toxicidad sobre el sistema inmune. A lo largo de los años se ha confirmado su capacidad de inducir la atrofia del timo en mamíferos debida a la muerte selectiva de linfocitos, y la capacidad de suprimir la respuesta inmune adaptativa celular y humoral de muchas especies. Esto motivó la necesidad de identificar mecanismos moleculares mediados por AhR que pudieran explicar la potente inmunotoxicidad. Sólo recientemente se han comenzado a identificar los potenciales ligandos endógenos del AhR y a especular acerca del rol fisiológico que esta vía de señalización podría tener, más allá de la inducción de genes como CYP1A1 para el metabolismo de los hidrocarburos agonistas. El factor nuclear Kappa B (NF- κ B) es un factor de transcripción pleiotrópico que tiene un rol central en el sistema inmune innato y adaptativo de los vertebrados. En la última década se ha avanzado en el conocimiento del cruzamiento entre la vía AhR y la vía NF- κ B y su efecto modulador recíproco. Esto ha contribuido a entender los mecanismos de inmunotoxicidad de las dioxinas. NF- κ B es en realidad una familia de cinco miembros presentes normalmente en el citoplasma y su traslocación nuclear ocurre cuando estímulos específicos como los lipopolisacáridos bacterianos en ciertas células del sistema inmune provocan la activación de su inhibidor y la traslocación nuclear como un homo o heterodímero. Algo similar ocurre con el AhR cuando se une a ligandos como TCDD y se transporta al núcleo formando un heterodímero con otra proteína conocida como traslocador nuclear asociado a AhR (ARNT). Hace ya una década que se identificó por primera vez el cruzamiento de las vías AhR y NF- κ B debido a la formación de un heterodímero AhR-RelA, siendo RelA uno de los cinco miembros de NF- κ B. Este hallazgo permitió comenzar a entender muchos de los potentes efectos inmunosupresores de las dioxinas por las consecuencias inhibitorias sobre la transcripción de muchas citoquinas fundamentales en la respuesta adaptativa celular y humoral. También permitió entender mucho acerca de la inducción de muerte apoptótica por TCDD en linfocitos. Sin embargo no siempre el cruzamiento entre AhR y NF- κ B redundaba en una inhibición de la transcripción de los genes dependientes de NF- κ B por

agonistas del AhR y esto fue notado en varios estudios sobre efectos de TCDD en la respuesta inflamatoria. Más recientemente se ha identificado la formación de heteodímeros AhR-RelB y su participación central en efectos de estimulación de la vía de NF- κ B especialmente durante la respuesta inmune innata e inflamatoria. Esto ha permitido entender parte de los mecanismos por los cuales se incrementan citoquinas inflamatorias como TNF- α , IL8, IL-1 e IL6 y como por otra parte se altera la maduración normal de las células dendríticas. Una aspecto de interés actual es saber si este cruzamiento de AhR con RelB tiene o no relación con la potente estimulación que tiene TCDD en la inducción de células CD4+CD25+Foxp3+ conocidas como linfocitos T reguladores y en que medida contribuye a la inmunosupresión que se observa aún a muy bajas dosis de exposición. El sistema inmune adaptativo requiere de la proliferación de linfocitos que reconocen los agentes extraños. Desde el punto de vista evolutivo el sistema inmune adaptativo surgió con los peces cartilagosos y se caracteriza por la producción de anticuerpos y receptores linfocitarios en base a recombinación de genes y creación de diversidad en el sitio de combinación con el antígeno de manera anticipada durante la maduración ontogénica y previa a entrar en contacto con los patógenos. La similitud del sistema inmune de los vertebrados explica que NF- κ B tenga un rol similar en la respuesta inmune de peces, anfibios, aves, reptiles y mamíferos. Siendo que el AhR de estos grupos es sensible a ligandos del AhR como TCDD es apreciable el impacto que tiene conocer los mecanismos de toxicidad inmune dependientes del cruzamiento de las vías AhR-NF- κ B

Sin duda el efecto inmunosupresor de ecotóxicos con actividad de ligando de AhR en especies de vida silvestre puede tener graves consecuencias ecológicas. Un ejemplo es el incremento en la susceptibilidad a patógenos naturales en una especie particular, el impacto que ello puede tener sobre las tasas reproductivas de esa especie y las consecuencias sobre el equilibrio ecológico y la biodiversidad. El AhR ha sido utilizado para la biodetección de ligandos dioxina-símiles en sistemas basados en la transfección asociada a genes reporteros como luciferasa sobre líneas celulares. Estos sistemas de screening han sido aplicados al monitoreo de aguas, sedimentos, especies sésiles de invertebrados como bivalvos o anélidos poliquetos. Estos sistemas son simples de aplicar al screening en peces, aves y mamíferos de vida silvestre. Han sido utilizados en plasma humano durante los últimos años en varios estudios epidemiológicos relacionado con exposición a dioxinas. Sin duda el conocimiento mecanístico de cruzamiento AhR-NF- κ B y sus consecuencias sobre el sistema inmune convierte a este biomarcador en un parámetro de gran relevancia para la ecoinmunotoxicología tanto en el marco experimental de laboratorio como en los estudios de campo.

Palabras Clave: AhR – NF- κ B – dioxinas – TCDD – Inmu-

notoxicidad – hidrocarburos aromáticos policíclicos – hidrocarburos aromáticos polihalogenados - biodetección



La Glicoproteína-p Como Un Potencial Biomarcador De Exposición A Xenobióticos.

Fabrizio D. Cid, Guido Fernández Marinone, Enrique Caviedes-Vidal.

Laboratorio de Biología "Prof. E. Caviedes Codelia", FCH. UNSL - Laboratorio de Biología Integrativa, IMIBIO-SL. CONICET - Departamento de Bioquímica y Ciencias Biológicas. FQByF.UNSL. Chacabuco 917, 5700 San Luis, Argentina. fabrizio.cid@gmail.com.

La contaminación ambiental es un problema global que afecta en forma negativa diferentes regiones del mundo, no sólo perjudica la salud de los seres humanos, los sistemas productivos, sino que también tiene un fuerte impacto negativo sobre los ecosistemas y la vida silvestre. En ambientes contaminados los seres vivos están expuestos a mezclas complejas de contaminantes químicos que pueden ingresar a los organismos a través de varias vías (respiratoria, digestiva, cutánea, etc.). Por otra parte, debido a la diversidad y variabilidad de los contaminantes químicos, los mecanismos de defensa que presentan los diferentes organismos tienen gran versatilidad y adaptabilidad. La biotransformación de xenobióticos liposolubles ocurre básicamente a través de dos fases. En la fase I se incrementa la reactividad química de la estructura molecular de los xenobióticos facilitando la reacción de éstos con los agentes de conjugación que constituyen la fase II. En los últimos años, además de estos mecanismos de defensa, se ha descrito una primera línea de protección del organismo. Esta protección está compuesta por transportadores, como la glicoproteína-P (P-gp), situados en las membranas celulares, que son activos frente a ciertos sustratos frenando o disminuyendo el flujo neto de los compuestos químicos hacia el interior de las células. La glicoproteína de permeabilidad (P-gp) es una bomba dependiente de ATP que expulsa sustancias al exterior de la célula, pertenece a la superfamilia ATP-Binding Cassette (ABC) y dentro de ésta a la subfamilia de la MDR que son proteínas involucradas en la resistencia a multidroga. P-gp está compuesta por unos 2000 aminoácidos (170kDa) con un grupo N-terminal glicosilado y presenta 6 dominios de transmembrana. P-gp se ha descrito en mamíferos en una variedad de tejidos normales (ej. barrera hematoencefálica, hígado, riñón, gónadas, intestino, pulmón, ojos y corazón) y está involucrada en el transporte activo de moléculas lipofílicas u orgánica a través de las membranas celulares. Curiosamente, parte de la notoriedad de P-gp está dada no por su rol en células normales, sino en neoplásicas, donde se ha observado una sobreexpresión que aporta a la resistencia frente a muchas drogas citotóxicas disminuyendo la eficacia de

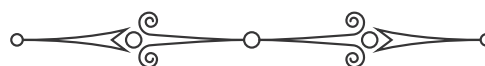
los tratamientos. De esta manera, la mayoría de los estudios disponibles a la fecha han sido realizados en mamíferos, más específicamente en seres humanos y ratas. Además, también se ha demostrado la presencia de esta glicoproteína en todos los taxones animales examinados hasta la fecha, incluyendo nematodos, moluscos, insectos, aves, anfibios, peces y reptiles. Por lo cual, se ha hipotetizado que la P-gp confiere protección a los animales frente a xenobióticos naturales y antropogénicos que están presentes en el ambiente.

Recientemente se ha propuesto utilizar la actividad y/o expresión génica de P-gp en organismos como un biomarcador de exposición a contaminantes. En este sentido, un rasgo importante de esta glicoproteína es que se ha demostrado una modulación de su actividad en diferentes especies, incrementándose ésta cuando los organismos son expuestos a toxinas que constituyen su sustrato. En experimentos controlados realizados con mamíferos y aves domésticas se ha observado que la actividad y expresión de la P-gp es dosis dependiente, y que la respuesta depende de la toxina administrada. En ensayos de laboratorio y de campo realizados en peces se encontró una inducción de la P-gp cuando los individuos son expuestos a petróleo y/o a algunos de sus derivados. En nematodos resistentes a ivermectina se encontró que el ARNm de P-gp estaba presente en mayores cantidades que en aquellos sensibles a este antiparasitario. Además, en investigaciones realizadas *in situ* encontraron una mayor expresión de P-gp en organismos acuáticos (moluscos) que habitan en zonas contaminadas en comparación con los que se encuentran en zonas menos alteradas.

Sin embargo, también se ha observado que la expresión de P-gp en algunos organismos acuáticos (moluscos) tiene una variación estacional, y aún no está totalmente dilucidada la relación entre su expresión, los parámetros fisicoquímicos y los contaminantes presentes. Además, otro inconveniente que presenta el uso de P-gp como biomarcador es que en algunos vertebrados se han reportado respuestas diferentes e incluso inversas en la expresión de P-gp dependiendo del sexo, toxina, tejido y/u órgano analizado. En ratas se ha observado que la expresión difiere según el sexo, y además presenta una expresión diferencial a lo largo del intestino. También se han observado diferentes niveles de expresión en diversos tejidos de rata en respuesta a la administración de ciclosporina-A, un fármaco considerado como inductor de P-gp. En aves de corral se halló que la expresión de P-gp aumenta en hígado y duodeno frente a monensina, pero con bacitracina, disminuye en un 45% en hígado, mientras que la expresión proteica en duodeno no se ve afectada. En particular en nuestras investigaciones sobre el rol de la Pgp en aves paseriformes, observamos que en diamante mandarín (*Taenopigya guttata*), la ingesta de una toxina natural (capsaicina) produce cambios diferenciales en los niveles de RNAm de P-gp según el órgano estudiado. Este hallazgo

constituye las primeras evidencias sobre la modulación diferencial del ARNm de P-gp en aves paseriformes.

Si bien ciertos antecedentes esbozan la posibilidad de utilizar la actividad y expresión de P-gp como biomarcador de exposición a xenobióticos, principalmente en organismos acuáticos, también plantean la necesidad de realizar un mayor número de investigaciones tendientes a dilucidar el comportamiento de ésta glicoproteína en diferentes especies, bajo diferentes condiciones ambientales y con diferentes toxinas y dosis. Además, considerando que en algunas especies la respuesta de esta glicoproteína es dependiente del tipo de toxina y dosis aplicada, previo a su consideración como biomarcador resulta imprescindible establecer el efecto sinérgico que pueden tener diferentes mezclas de toxinas o contaminantes ambientales sobre la P-gp. Asimismo sería deseable el desarrollo de nuevas metodologías de cuantificación de este sistema que sean económicas, rápidas y menos invasivas. Este trabajo fue financiado por FONCYT2007-01320 y UNSL-CyT 22Q051.



**Biomarcadores De Peces Nativos Y Estandarizados:
Ensayos De Campo Como Herramienta Diagnóstica De
La Calidad De Tres Ríos Periurbanos De La Provincia De
Buenos Aires**

Fde la Torre, Fernando R.^{1, 2}

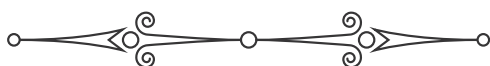
¹Programa de Ecofisiología Aplicada- Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. ²CONICET, Argentina. fdelatorre@unlu.edu.ar

Los centros urbanos e industrializados son generadores de poluentes potencialmente tóxicos que pueden alterar temporalmente o definitivamente el normal equilibrio homeostático de los ecosistemas acuáticos. En particular, el impacto adverso de la actividad antropogénica en el conurbano bonaerense es evidente en dos cuencas (Luján y Reconquista) que reciben en su recorrido el aporte desechos urbanos e industriales de distinto tipo y desagotan finalmente sus aguas en el Río de la Plata contribuyendo a un deterioro de la calidad del agua de este cuerpo receptor. La información generada a partir de parámetros biomarcadores de contaminación ha tomado creciente importancia como herramienta de evaluación ecotoxicológica de los ambientes acuáticos. Las respuestas de una "batería" de biomarcadores evaluadas en distintas especies-prueba de peces constituyen una valiosa herramienta que puede diagnosticar la condición ecotoxicológica de los ambientes. La evaluación de dichos biomarcadores mediante ensayos de campo realizados por confinamiento de organismos en jaulas y/o recolección de ejemplares *in situ* tienen gran

relevancia por su aplicabilidad en monitoreos. Empleando esta propuesta metodológica se realizaron ensayos de campo con ejemplares juveniles de dos especies nativas (*Pimelodella laticeps* y *Leporinus obtusidens*) y de una estandarizada (*Cyprinus carpio*) evaluando el impacto de la contaminación en distintos sitios de interés. Así se evaluó el aporte difuso de la contaminación agropecuaria en un afluente del río Reconquista localizado en la cuenca alta y el aporte urbano e industrial en la zona de desembocadura del río; se estudió además la calidad del río Luján en un sitio localizado en la cuenca media y en la baja del río. Por su parte en el Río de la Plata se realizaron ensayos en un sitio que recibe el aporte conjunto de las cuencas y Reconquista y en sitio aledaño a dos grandes centros urbanos que recibe también aportes de un polo petroquímico. Los peces permanecieron en los distintos sitios durante (15-20) días sumergidos en jaulas (densidad de carga no mayor a 2 g/p.c.) afirmadas al lecho. Las respuestas experimentales se compararon con las de peces expuestos en sitios considerados de referencia por su escaso impacto antrópico localizados en las cuencas del río Reconquista, Luján y Paraná. En el caso especial de *Leporinus obtusidens* el impacto adverso del sitio de interés se evaluó mediante la recolección *in situ* de ejemplares mediante redes. En todos los casos se tomaron muestras de agua, sedimento para determinar presencia de contaminantes y se determinaron parámetros fisicoquímicos básicos en agua. Los estudios realizados se focalizaron en el análisis de biomarcadores integrados en distintos niveles de complejidad biológica y dependieron de la especie considerada. Los parámetros estudiados se vincularon con el metabolismo de *biotransformación* (CYP1A1, glutatión-S-transferasa (GST) y metabolitos biliares), *estrés oxidativo* (actividad de enzimas antioxidantes glutatión reductasa (GR), glutamato cisteína ligasa catalasa (GCL), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), la capacidad antioxidante contra peroxi radicales (ACAP), peroxidación lipídica (TBARS), concentración del glutatión reducido (GSH)), respuestas de *desorganizadores endócrinos* (vitelogenina plasmática, VTG). Los resultados obtenidos permitieron evaluar la sensibilidad y la respuesta biomarcadora de los parámetros y demostraron la utilidad de la metodología empleada verificando respuestas diferenciales de los biomarcadores para las especies ensayadas acordes a la calidad ambiental de los sitios evaluados.

(Financiación: CONICET-PIP; ANPCyT-PICTRAICES, UNLu).

Palabras clave: biomarcadores de contaminación de peces – ensayos de campo – especies nativas y estandarizadas



Fármacos En El Ambiente.

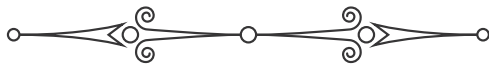
Elorriaga Y., Carriquiriborde P., Marino D.J, Ronco A.E.

Centro de Investigaciones del Medio Ambiente, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata - CONICET, 47 y 115, (1900)- La Plata, Argentina.. Teléfono/Fax: 0221- 4229329 cima@quimica.unlp.edu.ar

La continua introducción a cuerpos de agua superficiales de los compuestos farmacéuticos a través de vertidos cloacales ha venido siendo recientemente considerado un tema de relevancia e interés ambiental, por los potenciales efectos adversos sobre la biota acuática, los ecosistemas y, en última instancia, para la salud humana. El uso de biomarcadores es una importante herramienta para el estudio de los efectos asociados a la exposición de la biota no blanco a estos compuestos. El presente estudio, en desarrollo en el marco del plan de trabajo de una tesis doctoral, se planteó en dos etapas de investigación. En una primera etapa se realizó un monitoreo de los compuestos farmacéuticos más relevantes en ambientes acuáticos superficiales representativos, tanto en los sitios donde se realizan los vertidos cloacales, como en zonas de influencia de los mismos. Como segunda etapa de estudio, se propone evaluar respuestas biológicas a nivel bioquímico que puedan ser utilizadas como biomarcadores de exposición y/o efecto inducidos por compuestos puros y mezclas de los fármacos que resultaron ser de mayor relevancia por su frecuencia y concentración en los análisis químicos, utilizando la especie *Odontesthes bonariensis* (Pisces: Atherinopsidae), organismo modelo que ha venido siendo empleado en evaluaciones a escala de laboratorio. La interpretación de los datos desde la visión bioquímica brinda un aporte valioso para la clarificación de la posible significación de los resultados y su adecuada comunicación. Existen antecedentes bibliográficos de diversas regiones del mundo, sobre la detección de productos farmacéuticos en efluentes de las plantas depuradoras de aguas residuales, en aguas superficiales, e incluso en aguas de consumo. En Argentina no existen datos sobre la presencia de estos contaminantes en el ambiente. En base a encuestas sobre su consumo en la región y antecedentes bibliográficos, se seleccionó un grupo de fármacos para su estudio en descargas de efluentes cloacales (crudos o con tratamiento primario) y en aguas superficiales (margen sur del Estuario del Río de la Plata, lagunas de la Región Pampeana). Las determinaciones se realizaron mediante HPLC/DAD/MS, previo tratamiento de filtración y extracción en fase sólida de las muestras. En la totalidad de las muestras se encontró un patrón similar de compuestos, prevaleciendo los antiinflamatorios no esteroideos, antiepilépticos, beta-bloqueantes y la cafeína que es un estimulante y es utilizada como trazador de descargas cloacales. En el Río de la Plata, algunos de los compuestos fueron detectados a una distancia de hasta 1 km de la descarga, evidenciando el alcance del impacto en el cuerpo receptor. Los efectos adversos que los fármacos pueden tener sobre los organismos y el ambiente han sido demostrados. La mayoría de los ensayos de toxicidad letal aguda con productos farmacéuticos sobre organismos acuáticos sugieren un bajo riesgo

ecotoxicológico. Sin embargo, existen estudios que han demostrado efectos adversos cuando se consideran exposiciones subletales y crónicas. Los organismos acuáticos están expuestos a bajas concentraciones a lo largo de todo su ciclo de vida. El estudio de respuestas específicas que actúen como señales de alerta temprana (biomarcadores) permitirá contar con herramientas ecotoxicológicas para la detección de potenciales efectos adversos inducidos por exposiciones crónicas a estos compuestos sobre la biota acuática.

Palabras clave: contaminación, productos farmacéuticos, biomarcadores.



Efectos De Los Andrógenos Antropogénicos En La Gonadogénesis En El Pejerrey Bonaerense.

Fernandino, J.I.; González, A.; Somoza, G.M.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM). Av. Intendente Marino Km. 8,2 (B7130IWA). Chascomús. Provincia de Buenos Aires. Argentina. fernandino@intech.gov.ar

La identificación de los disruptores endócrinos (DE) ha ido creciendo en los últimos años. Estos compuestos alteran el normal funcionamiento del sistema endócrino de los organismos, produciendo efectos adversos sobre sí mismos, su progenie y/o la población. Los cuerpos de agua lénticos de la Eco-región Pampeana son particularmente susceptibles al impacto de los DEs debido a que en ellos se vierten los efluentes cloacales de las poblaciones aledañas luego de tratamientos primarios en el mejor de los casos. Este tipo de tratamientos no elimina entonces los esteroides antropogénicos los cuales pueden ser detectados en las aguas receptoras. La testosterona y su metabolito 5 α -dihidrotestosterona (DHT), son los principales andrógenos encontrados en este tipo de efluentes en distintos lugares del mundo.

Debido a la importancia de los esteroides en el destino final de la gónada, direccionándola hacia el desarrollo de un testículo o un ovario, el objetivo de este trabajo fue estudiar el impacto de DHT en el proceso de determinación/diferenciación sexual en larvas del pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*).

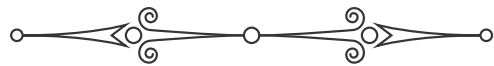
Las larvas fueron obtenidas del stock de reproductores del instituto, mantenidas en un sistema cerrado a temperatura (25°C) y fotoperíodo (16L:8O) constantes y alimentadas con alimento comercial solo o suplementado con 0,1 y 10 $\mu\text{g/g}$ de DHT, durante 6 semanas luego de la eclosión. Este período fue elegido debido a que a esta temperatura ya ha concluido el proceso de determinación sexual. En ese momento se tomó

una primera muestra para la cuantificación por Real Time PCR de los siguientes genes, de importancia en los procesos de diferenciación gonadal: *cyp19a1a*, *hsd11b2* y *amb*. El experimento se continuó hasta la semana 11, momento en el cual se tomó una muestra final para el análisis de la proporción de sexos y el desarrollo gonadal por histología.

El porcentaje de machos en el grupo control, DHT 0,1 $\mu\text{g/g}$ y DHT 10 $\mu\text{g/g}$ fue: 60%, 59.1% y 81.8% respectivamente, observándose un desvío en la relación hacia los machos en la mayor concentración de DHT. Los machos expuestos a DHT mostraron un incremento en el número de células germinales, sugiriendo una inducción temprana de la espermatogénesis. Se observó también una disminución en la expresión de *hsd11b2* y *amb*, debido probablemente a la inhibición de la síntesis de andrógenos 11-oxigenados y al aumento de la espermatogénesis, respectivamente. Sorprendentemente se observó también un aumento en la expresión de *cyp19a1a* (gen que codifica para la enzima aromatasa gonadal responsable de la aromatización de testosterona para la producción de estradiol), debido probablemente a la metabolización del DHT a 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol (β diol).

Tomados en su conjunto, estos resultados sugieren que la exposición de DHT altera los procesos de diferenciación sexual gonadal en esta especie.

Palabras clave: disruptores endócrinos, efluentes cloacales, DHT, pejerrey bonaerense



Revisión Y Análisis De Casos De Estudios Ecotoxicológicos Realizados En El Centro De Investigaciones Del Medio Ambiente (Fce-unlp).

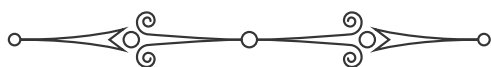
Ronco Alicia E.

Centro de Investigaciones del Medio Ambiente, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata - CONICET. La Plata, Argentina. cima@quimica.unlp.edu.ar

Respondiendo a las nuevas tendencias de diagnóstico para la valoración de los impactos de contaminantes ambientales, tanto en lo referente al comportamiento ambiental de las sustancias, como a sus efectos biológicos, el grupo de trabajo ha ido desarrollando, adaptando y adoptando nuevas herramientas de evaluación, junto a aplicaciones a estudios de casos en las dos últimas décadas. Esta tendencia también acompaña a cambios en reglamentaciones vinculadas con el sistema de gestión de control ambiental, las cuales han ido incorporando parámetros ecotóxicos para la evaluación de vertidos, certificación de productos, la caracterización de residuos peligrosos, de matrices ambientales de cuerpos receptores. La utilización de pruebas de ecotoxicidad se ha incluso extendido para dirimir

causas legales por contaminación ambiental. Se han generado protocolos estandarizados con normas generales y específicas de evaluación de efectos biológicos con ensayos de laboratorio. Este proceso ha estado mayoritariamente destinado a contar con herramientas de diagnóstico para evaluación de efectos agudos aplicados al ambiente acuático y más recientemente se ha extendido al ambiente terrestre. El sistema académico científico ha sustentado el transcurso, se han formado recursos humanos, se ha fortalecido el desarrollo de herramientas de diagnóstico con estudios de sensibilidad de especies Neotropicales a compuestos tóxicos de relevancia ambiental, se han generado o adaptado procedimientos específicos de ensayo, basados en pruebas con especies individuales, baterías de ensayo, incluso algunas de mayor complejidad para la evaluación de interacciones entre organismos. Por otra parte, ha crecido el número de estudios a nivel subletal y crónico, como así también las evaluaciones a campo y la incorporación de biomarcadores de exposición o efecto. Es en esta última línea donde los aportes de la bioquímica han sido más significativos, particularmente con técnicas que en algunos casos son de uso corriente en diagnóstico clínico. En particular, nuestro grupo de trabajo incorporó líneas de investigación para el estudio de respuestas biológicas a nivel sub-individual, que cubrieron desde el desarrollo y aplicación de técnicas para valorar la inhibición de la actividad nucleolar en células provenientes de tejido branquial o hepático de peces como respuesta a la exposición a tóxicos; la utilización de la enzima β -galactosidasa en ensayos *in vitro* para evaluar efectos de metales pesados; el diagnóstico con una batería de biomarcadores bioquímicos (hematocrito, hormonas esteroideas, vitelogenina, enzimas de detoxificación), acompañado de parámetros morfológicos para estudiar el impacto de vertidos industriales y su relación con el estado de salud de poblaciones de peces; el estudio de perfiles moleculares por HPLC-MS para la diferenciación de organismos provenientes de sitios contaminados respecto a sitios no contaminados y la determinación de metabolitos de exposición específicos y generales bajo condiciones controladas de extracción ("non target" análisis); efectos sobre el metabolismo inducidos por plaguicidas o fármacos y esteroides en anfibios, peces, insectos y plantas vasculares. Los aportes de nuevas herramientas de la biología molecular junto a técnicas analíticas de última generación están contribuyendo con nuevas estrategias de estudio que permiten una mejor comprensión de problemáticas ambientales al nivel de respuestas bioquímicas en organismos de muy diverso nivel de organización y escala trófica.

Palabras claves: ecotoxicología, herramientas de diagnóstico, valoración de efectos biológicos, bioensayos de toxicidad, biomarcadores, aplicaciones ambientales, reglamentaciones



Exposición Ambiental A Plaguicidas: Biomarcadores En Matrices No Invasivas En El Desarrollo Intrauterino Y La Infancia.

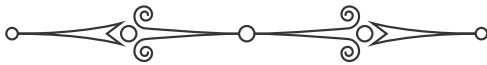
Rovedatti, MG² y Magnarelli GG^{1, 2}

¹Facultad de Ciencia Médicas; ²LIBIQUIMA (IDEPA-CONICET), Universidad Nacional del Comahue. Buenos Aires 1400, 8300-Neuquén, Argentina. Tel/Fax: 0299-4490385.
E-mail: grovedat@jetband.com.ar

Los estudios ecotoxicológicos referidos al impacto de la exposición a plaguicidas en especies no destinatarias han ampliado el espectro de los posibles efectos en humanos. Entre los biomarcadores más estudiados se encuentran los residuos de plaguicidas persistentes y sus metabolitos, mientras que las colinesterasas (AChE) y carboxilesterasas (CE) se han establecido como biomarcadores específicos de referencia en la exposición a organofosforados y carbamatos en invertebrados y vertebrados. En humanos, es frecuente la asociación de los crecientes diagnósticos en población infantil de problemas respiratorios, del desarrollo y conductuales con exposición ambiental a plaguicidas, siendo la exposición intrauterina la primera vía de contacto con estos xenobióticos. Es así que la caracterización de la exposición *in utero* y en la infancia es un campo que plantea desafíos en cuanto a los biomarcadores a seleccionar y a las matrices a analizar. Los biomarcadores seleccionados deben reflejar una medida de la exposición, de los efectos tóxicos y/o de la susceptibilidad individual. Las matrices deben ser no invasivas y abarcar los períodos vulnerables: el período embrionario, el fetal y la niñez. Sobre estas bases, la placenta y la saliva surgen como matrices apropiadas. La placenta se ha utilizado para estudiar la exposición a organoclorados y los polimorfismos de proteínas transportadoras y de enzimas detoxificantes. En cuanto a la saliva, si bien ha sido usada como una fuente de información de las condiciones fisiológicas y patológicas en roedores y humanos, su aplicación en ecotoxicología ha sido escasa. Nosotros hemos estudiado la utilidad de AChE y CE para el biomonitoreo de la exposición de una población rural del Alto Valle del Río Negro en ambas matrices. En placenta, órgano no innervado, observamos que la actividad de AChE en muestras colectadas durante el período de pulverizaciones (PP) fue mayor que la obtenida en el período de receso (PR), incremento que se asoció con una mayor expresión de esta enzima. Postulamos que este aumento afectaría la vida media de acetilcolina, factor regulador del desarrollo del trofoblasto. Por el contrario, en PP la CE placentaria disminuyó significativamente, lo cual se traduciría en consecuencias a nivel de la farmacocinética de prodrogas y la detoxificación. Por otra parte, utilizamos la saliva para la evaluación de la exposición a plaguicidas en niños de edad pre-escolar comparativamente con sus madres. Demostramos que, si bien AChE resultó ser más sensible a la inhibición durante PP que CE, CE reflejó más adecuadamente el grado de exposición ambiental. Adicionalmente observa-

mos una mayor inhibición de AChE y CE salival en los niños que en sus madres, resultado que es coherente con el concepto que los niños son más vulnerables que los adultos a la exposición ambiental a tóxicos debido a sus características fisiológicas y comportamentales. Un aspecto de interés que presentan ambas matrices es la posibilidad de la evaluación de la disrupción endócrina por la exposición a plaguicidas. En la placenta se sintetizan una variedad de hormonas peptídicas y esteroidales, habiéndose demostrado que la aromataasa, enzima clave en la producción de estrógenos, resulta un blanco sensible a los organoclorados. Referido a la exposición ambiental a OP, estudios preliminares de nuestro laboratorio sugieren una disminución de la producción de progesterona en placenta en PP. En saliva, cortisol, progesterona y testosterona han sido dosadas frecuentemente con fines clínicos, ya que se acepta que los niveles de estas hormonas reflejan la fracción libre circulante en plasma. Sin embargo, no hay información referida a estudios de disrupción endócrina por exposición a plaguicidas utilizando esta matriz. En suma, ambas matrices poseen un potencial rico en cuanto a la variedad de biomarcadores a ser explorados para la evaluación ecotoxicológica de poblaciones de riesgo.

Palabras clave: carboxilesterasa, colinesterasa, disrupción endócrina, infancia, período fetal, placenta, plaguicidas, saliva.



Esteroides Y Diferenciación Sexual En El Pejerrey Bonaerense. Impacto De Los Disruptores Endócrinos.

Somoza, G.M.; Fernandino, J.I.; Carriguiriborde, P.; Pérez, M.R.; González, A.

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM). Av. Intendente Marino Km. 8,2 (B7130IWA). Chascomús, Provincia de Buenos Aires, Argentina. somoza@intech.gov.ar

Los peces son particularmente útiles como centinelas de la contaminación acuática, ya que son vertebrados que poseen su ciclo de vida completo en el medio acuático y su sistema endócrino es homólogo al de los vertebrados tetrápodos.

El pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) es una especie gonocórica cuyo proceso de determinación/diferenciación sexual se encuentra bien caracterizado. Esta especie posee un sistema de determinación sexual por temperatura (TSD) y experimentalmente se pueden obtener proporciones similar de machos y hembras si las larvas son mantenidas durante la ventana sensible (semanas 1 a 5) a temperaturas intermedias (24-25°C), o lotes “todos machos” o “todas hembras” si se exponen a temperaturas altas (29°C) o bajas (17°C) respectivamente. Por otro lado, está bien establecido que los esteroides

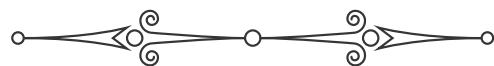
están relacionados con este proceso y la administración de los mismos durante esa ventana sensible puede influir fuertemente en el proceso de diferenciación gonadal, llegando incluso a invertir el efecto de la temperatura.

Estos avances y la identificación de marcadores moleculares relacionados con el proceso de determinación/diferenciación sexual nos han permitido proponer al pejerrey como un modelo para estudiar los problemas ambientales inducidos por disruptores endocrinos (DEs) y su relación con los cambios de temperatura. La plasticidad de este sistema de determinación/diferenciación del sexo en el pejerrey hace de ésta una especie susceptible y muy interesante para evaluar el efecto de los DEs, los cuales son capaces de imitar o alterar las acciones de las hormonas sexuales. Por ejemplo, en esta especie la diferenciación morfológica del ovario está asociada a la síntesis de E₂ y a la expresión del gen que codifica para la enzima que lo sintetiza: *cyp19a1a*. También se ha demostrado que la exposición de larvas de pejerrey a E₂ durante las primeras semanas post-eclosión produce un 100% de hembras.

El pejerrey habita cuerpos de agua de la Eco-región Pampeana muchos de los cuales son el reservorio de los efluentes cloacales de las poblaciones vecinas. Ya que estos desechos son vertidos en su gran mayoría luego de escaso o nulo tratamiento, por lo que no resultó extraño que se detectaran estradiol (E₂) y 17α-etinilestradiol (EE₂, un análogo superactivo de E₂ que es muy utilizado en la formulación de las píldoras anticonceptivas) en concentraciones endocrinamente relevantes en estas aguas.

En este contexto, el objetivo de esta presentación es mostrar los avances sobre el efecto de la exposición de estrógenos antropogénicos sobre la diferenciación sexual y expresión de genes involucrados en las vías de síntesis de andrógenos y estrógenos en larvas y juveniles de pejerrey.

Palabras clave: disruptores endócrinos, efluentes cloacales, estrógenos, pejerrey bonaerense



Uso De Biomarcadores En Organismos Acuáticos En La Evaluación De Impacto De Agroquímicos En El Alto Valle Del Río Negro.

SCecilia Lascano^{1*}, Verónica Sotomayor^{1*}, Clara Ventura², Enrique Rosenbaum¹, Ana Ferrari¹, Elena Rivera², Claudia Cocca², Andrés Venturino¹.

¹LIBIQUIMA, IDEPA, CONICET-Universidad Nacional del Comahue.

²Laboratorio de Radioisótopos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA [a.venturino@conicet.gov.ar]

El análisis químico ambiental ha permitido aproximarse a una evaluación del riesgo de organismos por la exposición a agroquímicos en el Alto Valle. Los resultados son asimilables con buena aproximación a los niveles conocidos de aplicación, siendo por ejemplo el más frecuente el organofosforado (OP) metilazinfos (MAZ), con un máximo detectado en aguas de 22 µg/l, seguido por clorpirifos (máximo 1 µg/l), y carbaril (46 µg/l). Dadas las limitaciones de este tipo de análisis en la evaluación de impacto por la variación estacional de frecuencias y niveles de detección, efectos geofísicos y modelos hidrodinámicos disponibles, el uso de biomarcadores está fuertemente recomendado. El uso de esterasas como biomarcadores clásicos de exposición a OP y carbamatos marcó diferencias en la respuesta de poblaciones de gamáridos en zonas prístinas vs. zonas bajo aplicación de agroquímicos. Acetilcolinesterasa (AChE) presentó mayor sensibilidad a inhibición en *H. curvispina* de zona prístina (20X), mostrando además inducción a muy bajas concentraciones de MAZ. Los mismos individuos mostraron menor actividad de Carboxilsterasa (CarbE; 52%), sugiriendo una presión selectiva protectora en la población expuesta, cuya actividad CarbE mostró inhibición parcial hasta concentraciones muy altas de carbaril. Peces introducidos como la trucha arcoíris presentaron una sensibilidad muy alta en AChE hacia OP del orden de µg/l, una importante diferencia respecto a concentraciones letales, y una muy lenta recuperación a la exposición, superior a 20 días. Al respecto, esto determinaría una muy buena respuesta de AChE como biomarcador. En estudios con larvas de anfibio *R. arenarum*, AChE y CarbE fueron inhibidas a concentraciones altas de OP y carbamatos. Sin embargo los estadios embrionarios tempranos no presentaron inhibición de colinesterasas, o mostraron inducción frente a niveles subletales (mg/l) de OP. En dichos estadios, se observó la inhibición/activación de otros biomarcadores relacionados a estrés oxidativo y/o detoxificación, como SOD y GSH-S-Transferasas. Estudios a campo con larvas de *R. arenarum* muestran respuestas de estos marcadores, entre ellas inducción de AChE e incremento de GSH, que sugieren que las concentraciones ambientales alcanzadas pueden ser sensiblemente mayores a las detectadas. Las poliaminas y la actividad de Ornitina decarboxilasa (ODC) son biomarcadores interesantes en *R. arenarum* ya que muestran también respuestas

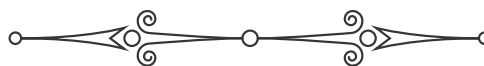
tempranas a OP y en ausencia de efectos sobre viabilidad y esterasas. Por ejemplo, clorpirifos presenta en embriones tempranos una LC50 de 23,3 mg/l, una NOEC de 8 mg/l, y una IC50 para ODC de 4,6 mg/l. Además, los niveles de poliaminas se correlacionan altamente con parámetros de crecimiento de los embriones. Otros biomarcadores demuestran también esta capacidad de respuesta en ausencia de efectos sobre parámetros clásicos. Factores de transcripción como cFos muestran inducción/represión en forma ligada a una posible regulación sobre ODC en embriones expuestos a OP. Vías de señalización se inducen (PKC, JNK) o reprimen (Erk1/2) en respuesta a OP, probablemente mediando los efectos sobre sistemas antioxidantes. Finalmente, estudios de avance en cultivos en células humanas nos han permitido inferir que la exposición a clorpirifos en niveles relativamente altos (50 µM) provoca acumulación de especies reactivas de oxígeno causando arresto en fase S, mientras que niveles bajos (0,05 µM) provoca el aumento de la síntesis de ADN, aumento de ciclina E y la fosforilación del receptor estrogénico α. Las respuestas de estos marcadores moleculares en evaluaciones a campo podrían señalar efectos deletéreos de la exposición a agroquímicos aún en ausencia otros signos, precediendo daños a más largo plazo y mejorando la predicción de riesgos ambientales.

En conclusión, el uso de biomarcadores permite inferir que el escenario de riesgo para especies acuáticas en la región del Alto Valle puede ser perfeccionado, ya sea porque las concentraciones ambientales pueden ser mayores a las predecibles, por aparición de fenómenos de susceptibilidad o tolerancia, o directamente por la aplicación de biomarcadores más tempranos o sensibles que los clásicos propuestos para agroquímicos.

Palabras clave: plaguicidas; esterasas; sistemas antioxidantes; poliaminas; biomarcadores moleculares.

*Los autores contribuyeron en igual proporción al presente trabajo

Financiamiento: PICT Redes 214-2007, ANPCyT-Ministerio de Ciencia y Tecnología. Programa 04-I004 UNCo.





Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.

Consejo Directivo

El 28 de abril tuvo lugar la Asamblea Ordinaria convocada para proceder a la elección de los miembros que cesan su mandato, siendo elegidos por un período de dos años: un Vicepresidente, un Prosecretario, un Protesorero, un Vocal Titular y un Vocal Suplente y por un año tres Revisores de Cuentas.

El Consejo Directivo quedó constituido de la siguiente manera:

Presidente:	Acad. Carlos M. Baratti
Vicepresidente:	Acad. Miguel Ángel Caso
Secretario General:	Acad. Gabriel Mato
Prosecretario:	Acad. Marta M. Salseduc
Tesorero:	Acad. Ronaldo Meda
Protesorero:	Acad. Miguel D' Aquino
Vocales Titulares:	Acad. Carlos A. Gotelli Acad. Juan Pablo F.C. Rossi
Vocales Suplentes:	Acad. Otmaro E. Roses Acad. Modesto C. Rubio
Revisores de Cuentas:	Acad. Alfredo A. Hager Acad. Eloy E. Mandrile Acad. Francisco Stéfano

El Consejo Directivo realizó durante este período diez (10) reuniones y el Claustro Académico se reunió en ocho (9) oportunidades.

La nómina de las Comisiones y la composición de las Secciones figuran como anexos I y II.

Asunción de Nuevas Autoridades

Nuevos Académicos Titulares

En la reunión de Claustro del día 23 de abril fue designado Académico Titular al Dr. Alfredo Salibián hasta entonces Académico Correspondiente y fue electa como Académica Titular la Dra. María Guillermina Volonté (Ciencias Farmacéuticas). Los Doctores Marcos Pizzolato y Osvaldo Cascone, fueron electos Académicos Titulares (Ciencias Bioquímicas) en la reunión del Claustro del 27 de octubre, mientras que en la reunión del 24 de noviembre fue designado a Académico Titular (Ciencias Farmacéuticas) el hasta entonces Acad. Correspondiente Dr. Manuel R. Limeres.

Correspondientes

El 27 de julio fue aceptado por el Claustro de esta Academia el pase de Académico Titular a Correspondiente del Acad. Daniel O. Sordelli. Además, fue electo en carácter de Académico Correspondiente Jorge Errecalde el 27 de octubre.

Actos de incorporación de académicos

El 28 de julio se llevó a cabo el acto de incorporación de la Académica Titular María Guillermina Volonté. Asimismo, se incorporó como Académico Titular en Dr. Alfredo Salibián.

Los Académicos ingresantes dictaron una Conferencia de incorporación, según lo especificado en el Estatuto, y se les hizo entrega de la medalla y diploma correspondientes, según el detalle que figura en el anexo III.

Entrega de diplomas a académicos

El jueves 27 de julio se realizó la entrega del diploma de Académico Titular Acad. Alfredo Salibián.

PREMIOS

• Premios bienales

Luego de finalizado el Simposio Bioquímica Ambiental: Los Biomarcadores como herramienta de la Ecotoxicología, realizado el 10 de noviembre, se hizo entrega de los Premios Academia Año 2009 y 2010 correspondientes al año 2010 y 2011.

Premios año 2009

Premio: "Felipe Manjón" - Área Farmacotécnica-

"Encapsulación del Fármaco Antirretroviral Efavirenz en Nanotransportadores Poliméricos para la Optimización de la farmacoterapia del Virus de la Inmunodeficiencia Humana en Pacientes Pediátricos."

Dr. Diego Chiappetta
Dr. Christian Höcht,
Dr. Carlos Taira
PhD en Química Aplicada. Alejandro Sosnik

Premio: "Francisco Cignoli" - Área Historia de la Farmacia y la Bioquímica-

Rafael Cadomiga: "La huella de un gran maestro de la farmacia"

Dr. Roberto García

Premio: "Julio Rossignoli" - Área Físicoquímica-

"Nuevo mecanismo de regulación descrito para la bomba de calcio de membrana plasmática por el citoesqueleto de actina"

Bioq. Farm. María Candelaria de la Fuente
Farm. Maria Gisela Dalghi
Lic. Mariela Soledad Ferreira Gomes
Dra. Laura Vanagas.

ACCESIT

“Fisicoquímica de la estabilidad de las proteínas de membrana. estudio de la estabilidad térmica de una arpasa transportadora de cu +hipertermófila”.

Dr. Diego Ignacio Catón.
Dr. Francisco Luis González Fecha.

Premios año 2010

Premio: “Rebeca Gershman” - Área Fisiología-

“Nueva Evidencias del papel del Péptido Natriurético Tipo C en la funcionalidad vascular. Impacto en el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la hipertensión arterial.”

Lic. Carolina Cecilia Caniffi
Lic. Rosana Elesgaray
Dra. María de los Ángeles Cost
Lic. Cristina T. Arranz

Premio: “Agustín D. Marenzi” - Área Química Biológica-

“Oclusión de Calcio en la Ca²⁺-ATPasa de Membrana Plasmática”.

Lic. Mariela Soledad Ferreira Gomes
Dr. Rodolfo Martín González Lebrero

Premio: “Víctor Nethol” – Área Cosmética-

“El desafío de evaluar la irritación ocular en cosmética”.

Dra. Susana Beatriz Gorzalczany
Lic. Diana Geraduzzi

Premio: “Luis De Prado” - Área Legislación-

“Legislación de Medicamentos y Desarrollo de la Industria Farmacéutica Antes de la Ley Oñativia”.

Dra. Inés M. I. Bignone
Dr. Roberto A. Diez

Premio: “Juan C. García Fernández” - Área Toxicología-

“Acción del Plaguicida Organofosforado Clorpirifos sobre el crecimiento celular e independiente de estrógenos”.

Lic. Clara Ventura
Dra. Mariel Nuñez
Lic. Diego Lamas Martinel

Lic. Nora Mohamad
Dra. Andrea Randi
Dr. Andrés Venturino
Dra. Elena Rivera
Dra. Claudia Cocca

CONFERENCIAS

• De incorporación como Académicos Titulares

El 28 de julio en el Salón de Conferencias "*Pbro. Antonio Sáenz*", se incorporó como Académica Titular María Guillermina Volonté y el Académico Titular Alfredo Salibián. La Acad. Volonté brindó una conferencia titulada: "*Medicamentos Seguros: Control de Calidad y Calidad en el Control*". Fue presentado por la señora Académica Marta Salseduc. Por su parte, el Acad. Alfredo Salibián recibió el diploma que lo distingue como Académico Titular.

Anexo IV

• Distinciones recibidas por Académicos

El Acad. Emérito Héctor Chechile le fue otorgado el *Premio a la Distinción* concedido por el Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires, entregado en el recinto del Senado de la Provincia de Buenos Aires.

El Acad. Correspondiente Oscar H. Fay fue distinguido con el *Premio Trayectoria Profesional 2011*, otorgado por la Confederación de Profesionales de la República Argentina.

El Acad. Titular Modesto C. Rubio fue nombrado Académico Correspondiente de la Real Academia de Farmacia de Cataluña. El 30 de julio fue celebrada la ceremonia de incorporación.

COLOQUIOS

Durante el corriente año, prosiguieron desarrollándose los Coloquios al final de las Reuniones del Claustro de la Academia. Los Académicos participantes y los temas presentados fueron los siguientes:

Acad. Otmaro Roses: "*Cocaína- Paco*"

Acad. Nacucchio: "*Aportes de la tecnología farmacéutica a la Medicina Regenerativa*"

Acad. Poskus: "*El actual escenario del diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus*"

Acad. Rubio: "*La homeopatía es un placebo útil o una intervención no ética*"

Acad. Caffini: "*Proteínas desestructuradas*"

REUNIONES CIENTIFICAS

El 18 de agosto se llevó a cabo las 155^o Jornada Científica titulada "*Fraude Científico*", coordinada por el Acad. Carlos A. Gotelli y siendo Secretario el Acad. Alfredo Hager.

Anexo V.

El 10 de noviembre se realizó el *Simposio Bioquímica Ambiental: Los Biomarcadores como herramienta de la Ecotoxicología*, organizada por la Sección Ciencias Bioquímicas bajo la coordinación del Acad. Alfredo Salibián.

Anexo VI.

Finalmente el 20 de octubre se llevó adelante el Seminario Intoxicaciones Medicamentosas, coordinada por el Acad. Manuel R. Limeres siendo Secretario el Acad. Carlos M. Rubio.
Anexo VII

AUSPICIOS DE LA ACADEMIA A REUNIONES CIENTÍFICAS

69° Congreso Argentino de Bioquímica
“Los Grandes Síndromes Clínicos: de la sospecha el diagnóstico Bioquímico Molecular”.

II Congreso argentino de Farmacia y Bioquímica Industrial,
XI jornadas de Farmacia y Bioquímica Industrial
y
EXPOFYBI 2011.

Aula Virtual de Radiofarmacia.

Laboratorio de Radioisótopos
Cátedra de Física
Departamento de Fisicomatemática
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires.

RELACIONES CON OTRAS ACADEMIAS NACIONALES

Se mantiene una relación directa con las Academias Nacionales, asistiendo a incorporaciones y actos programados, a los que fue invitada nuestra Academia.

En forma especial merece destacarse:

- El Vicepresidente Acad. Miguel A. Caso asistió al acto homenaje realizado al General Manuel Belgrano en el antiguo recinto del Congreso Nacional, sede de la Academia Nacional de la Historia. En dicho acto hizo uso de la palabra el Académico de número Dr. Miguel Ángel De Marco quien disertó sobre *Belgrano y los argentinos*.
- El Vicepresidente Acad. Miguel A. Caso concurrió a la presentación del libro *La cuestión del agua. Consideraciones sobre el estado de la situación de los recursos hídricos de la Argentina*. Realizada por las Academias Nacionales de Ciencias Económicas, Ingeniería y Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- El Vicepresidente Acad. Miguel A. Caso asistió a la Academia Nacional de Periodismo que conmemoró el Día del Periodista. En dicho acto se hizo entrega del premio Pluma de Honor 2011 a Norma Morandini.
- El Vicepresidente Acad. Miguel A. Caso participó de los festejos por el 75° Aniversario de la creación de la Academia Nacional de Bellas Artes.
- El Presidente Carlos M. Baratti asistió al Acto Académico organizado por la Academia Nacional de Odontología con motivo de la asunción de sus nuevas autoridades.

RELACIONES CON OTRAS INSTITUCIONES Y PARTICIPACIONES EN CONGRESOS

Los días 4, 5 y 6 de mayo se llevó a cabo el IV CONGRESO de la ASOCIACIÓN IBEROAMERICANA DE ACADEMIAS DE FARMACIA (AIAF), organizada por la Academia de Farmacia Santa María de España de la Región de Murcia, en Cartagena, España.

Asistieron a dicho Congreso el Presidente de esta Academia Carlos M. Baratti y los Académicos Marcelo Squassini y Manuel Limeres. Allí el Sr. Presidente participó en la mesa redonda: *Academias de Farmacia, como órgano de opinión y consulta de los problemas de la sociedad actual, expuso sobre el tema: "Una visión pragmática basada en nuestra realidad"*.

Además se hizo entrega del diploma y medalla a la Académica Honoraria María Teresa Miras Portugal, Presidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia.

- El Presidente Acad. Carlos M. Baratti junto al vicepresidente Acad. Miguel A. Caso, asistieron a la conferencia realizada por el Ministro de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación, Dr. Lino Barañao, quien disertó sobre el tema: *Actualidad y futuro del desarrollo científico en Argentina*, en el marco de los 20° aniversario de la Universidad de Ciencias Empresariales y Sociales (UCES).
- El Presidente Acad. Carlos M. Baratti junto a la Acad. Marta Salseduc, asistieron al festejo de los 190° aniversario de la Universidad de Buenos Aires, realizada en la Iglesia San Ignacio de Loyola de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- Con motivo de cumplirse el 75° Aniversario de la Confederación Farmacéutica Argentina el Presidente Acad. Carlos M. Baratti, resaltó los excelentes vínculos que mantienen ambas instituciones y su importancia para el presente y el futuro de los profesionales farmacéuticos. Su opinión fue publicada bajo el título: *"Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica"*, en el libro de oro de la Confederación Farmacéutica Argentina (1935-2010).
- El Presidente Acad. Carlos M. Baratti asistió a la Confederación Farmacéutica Argentina con la participación de otras instituciones académicas y profesionales farmacéuticas y médicas en pos del resguardo de la salud pública en cuanto a la aplicación de la Ley Nacional n° 26567 a fin de que no se puedan vender medicamentos en sitios que no cuenten con las condiciones necesarias.
- El Presidente Acad. Carlos M. Baratti y los Académicos Gabriel Mato y Manuel R. Limeres asistieron a la II Jornada por el uso Racional de los Medicamentos realizado en el salón Montevideo de la Legislatura de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, organizado por el Colegio de Farmacéuticos de la Capital Federal y la Confederación Farmacéutica Argentina.
- El vicepresidente Acad. Miguel A. Caso asistió a la conferencia organizada por la Sociedad Científica Argentina donde disertó el Dr. Jorge R. Vanossi sobre el tema: *Sarmiento y el mundo de su época*.
- Finalmente, el vicepresidente Miguel A. Caso junto al Acad. Ronaldo Meda asistieron a la reunión de fin de año organizada por los presidentes de Laboratorios Bagó, Juan Carlos Bagó y Sebastián Bagó, en el Alvear Palace Hotel- Salón Versailles. Allí se presentó el libro Perez Celis.

PUBLICACIONES

- Revista Farmacéutica 153 n° 1-2 (2011).
- Anales de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica (Año 2010) versión electrónica.
- Fue publicado el libro de actuaciones de Conferencias y Sesiones del III Encuentro de la Asociación Iberoamericana de Academias de Farmacia (AIAF).

ENTIDADES COOPERADORAS DE LA ACADEMIA

En la Revista Farmacéutica se mencionan las Entidades Cooperadoras que apoyan económicamente a la Academia, permitiendo así su normal funcionamiento. (Se mencionan en el anexo VIII).

ACTO DE FIN DE AÑO

El 15 de diciembre tuvo lugar en la sede de nuestra Academia el brindis de Fin de Año.

ANEXO I

COMISIONES 2011

(Por orden alfabético)

Administración y Finanzas

Miguel A. Caso, Marcelo C. Nacucchio, Rubén V. D. Rondina.

Educación Farmacéutica y Bioquímica

María Cristina Añón, Alberto A. Boveris, Tomás de Paoli, Luis Díaz, Carlos A. Gaozza, Gabriel Gutkind, Regina L. W. de Wikinski.

Ejercicio Profesional

Sem Albónico, Carlos Bregni, Ricardo Caro, Ronaldo Meda.

Estatuto y Reglamentos

Miguel A. Caso, Miguel D'Aquino, Marcelo C. Nacucchio, Rubén V. D. Rondina.

Publicaciones

Miguel D'Aquino (Coordinador), Carlos M. Baratti, Manuel Limeres, Luis E. Díaz, Miguel A. Caso, Mario A. Los, Ronaldo Meda, Marcelo C. Nacucchio, María Luz Pita Martín, Marta M. Salseduc, Modesto C. Rubio, Gabriel O. Gutkind

Reuniones Científicas, Cursos y Conferencias

Carlos Bregni, Rodolfo Brenner, Clyde N. Carducci, Miguel D' Aquino, Otmaro E. Roses, Modesto C. Rubio, José A. Santomé, Regina L.W. de Wikinski.

Vinculaciones y Relaciones Públicas

Clyde N. Carducci, Miguel A. Caso, Regina L.W. de Wikinski.

Premios y Distinciones

Miguel A. Caso, Miguel D'Aquino, Marcelo C. Nacucchio, Modesto C. Rubio, Otmaro E. Roses.

Comisión de Ex Presidentes

Eloy L. Mandrile, Juan C. Sanahuja, Modesto C. Rubio.

ANEXO II

MIEMBROS TITULARES Y SECCIONES

- A) SECCION CIENCIAS BIOQUIMICAS (19 miembros)
- B) SECCION CIENCIAS BASICAS (9 miembros)
- C) SECCION CIENCIAS FARMACEUTICAS (16 miembros)

- **SECCION A: CIENCIAS BIOQUIMICAS**

Acad. María Cristina Añón
Acad. Mirta J. Biscoglio
Acad. Rodolfo Brenner
Acad. Néstor O. Caffini
Acad. Osvaldo Cascone
Acad. Héctor I. Giuliani
Acad. Silvia Hajos
Acad. Eloy L. Mandrile
Acad. Ronaldo Meda
Acad. Edgardo Poskus
Acad. Ana María Pechen D'Angelo
Acad. María Luz Pita Martín de Portela
Acad. Marcos Pizzolato
Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Juan Pablo F.C. Rossi (**Coordinador alterno**)
Acad. Alfredo Salibián
Acad. José A. Santomé
Acad. Daniel O. Sordelli (**Acad. Correspondiente**)
Acad. Regina L. W. de Wikinski (**Coordinadora**)

- **SECCION B: CIENCIAS BASICAS**

Acad. Alberto A. Boveris
Acad. Clyde N. Carducci
Acad. Ricardo A. Caro
Acad. Luis E. Díaz
Acad. Carlos H. Gaozza
Acad. Carlos A. Gotelli (**Coordinador**)
Acad. Tomas De Paoli
Acad. Alfredo A. Hager (**Coordinador alterno**)
Acad. Jorge O. Nicolini

- **SECCION C: CIENCIAS FARMACEUTICAS**

Acad. Sem M. Albónico
Acad. Carlos M. Baratti
Acad. Carlos Bregni
Acad. Miguel A. Caso
Acad. Miguel D' Aquino
Acad. Gabriel O. Gutkind

Acad. Mario A. Los
Acad. Manuel R. Limeres
Acad. Horacio J. G. Mato
Acad. Marcelo C. Nacucchio
Acad. Marcelo Squassini
Acad. Rubén V. D. Rondina
Acad. Modesto C. Rubio (**Coordinador**)
Acad. Marta M. Salseduc (**Coordinador alterno**)
Acad. Francisco J. E. Stéfano
Acad. María Guillermina Volonté

MIEMBROS EMERITOS

Acad. Arnaldo L. Bandoni
Acad. Osvaldo D. Castrelos †
Acad. Jorge D. Coussio
Acad. Héctor M. Chechile
Acad. Mateo Chekherdeman
Acad. Gilberto N. Dalesio †
Acad. Juan Carlos Gómez †
Acad. Néstor Iribarren †
Acad. Enrique Ióvine
Acad. Horacio B. Rodríguez
Acad. Alejandro C. Paladini
Acad. Juan C. Sanahuja
Acad. Antonio F. Somaini

MIEMBROS CORRESPONDIENTES NACIONALES

Acad. Aníbal G. Amat
Acad. Marcelo Oscar Cabada
Acad. Jorge Oscar Errecalde
Acad. Oscar H. Fay
Acad. Raúl C. Fazio
Acad. Aída Pesce de Ruiz Holgado
Acad. Guillermo R. Lossa
Acad. Rubén H. Manzo
Acad. Modesto P. Montecchia
Acad. Aldo Mottino
Acad. Elsa M. Nadalin
Acad. Jorge O. Nicolini
Acad. Otto A. Orsingher
Acad. Gabriela del Valle Perdigón
Acad. Hugo G. Pérez
Acad. María Luz Pita Martín de Portela
Acad. Clelia M. Riera
Acad. Marcelo Squassini
Acad. Daniel O. Sordelli

ANEXO III

Buenos Aires, mayo de 2011.

La ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA tiene el agrado de invitar a usted y familia a la SESION PÚBLICA EXTRAORDINARIA que, con motivo de incorporar como Académicos Titulares a la Dra. María Guillermina Volonté y al Acad. Correspondiente Dr. Alfredo Salibián, celebrará el jueves 28 de julio, a las 18.00 horas, en su sede Facultad de Farmacia y Bioquímica, Salón de Conferencias "Pbro. Antonio Sáenz", Junín 956, Buenos Aires.

Saludamos a usted con nuestra más distinguida consideración.

Acad. Gabriel Mato
Secretario

Acad. Carlos M. Baratti
Presidente

PROGRAMA

- Palabras de apertura del acto y entrega de diploma de Académico Titular al Académico Correspondiente Dr. Alfredo Salibián, por el Sr. Presidente de la Academia Acad. Dr. Carlos M Baratti.

Presentación de la Dra. María Guillermina Volonté por la señora Académica Marta Salseduc.

- Discurso de incorporación de la Dra. María Guillermina Volonté quien disertará sobre el tema: "*Medicamentos Seguros: Control de Calidad y Calidad en el Control*"
- Entrega de diploma y medalla a la Académica Titular María Guillermina, por el Sr. Presidente de la Academia Acad. Dr. Carlos M Baratti

ANEXO V

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Sala de Conferencias: "Pbro. Antonio Sáenz"

155º JORNADA CIENTÍFICA

"Fraude Científico"

18 de agosto de 2011

Buenos Aires – ARGENTINA

Coordinador: Acad. Carlos A. Gotelli

Secretario: Acad. Alfredo A. Hager

PROGRAMA

10:00 - 13:00 – Exhibición de Posters

14:00 - 14:45 - Prof. Dr. Federico Pégola: *“Bioética y Fraude Científico”*.

14:45 - 15:30 - Acad. Carlos Gotelli: *“Fraude Científico: Inconductas Científicas”*.

15:30 - 16:00 - Corte para Café

16:00 - 16:45 - Prof. Dr. Roberto Castro: *“Análisis Crítico de los Principales Fraudes Científicos”*.

16:45 - 17:15 - MSc Liliana Descalzi: *“Corrección de Defectos Genéticos”*.

17:15 - 18:00 - Mesa de Debate

El premio es otorgado al trabajo *“La gabapentina, un sorprendente fármaco que previene la enfermedad de Alzheimer”*, presentado por Blake, MG; Boccia, MM; Krawczyk, MC.

El premio Accesit se otorga al trabajo *“Programación fetal de alteraciones en la morfología renal por deficiencia de zinc en ratas”* presentado por Gobetto MN, Juriol LV, Veiras L, Secchiari F, Costa MA, Arranz C, Tomat AL.

ANEXO VI

SIMPOSIO BIOQUIMICA AMBIENTAL

Los Biomarcadores como herramientas de la Ecotoxicología

Organización: Sección Ciencias Bioquímicas

Coordinador: Acad. Alfredo Salibián

Buenos Aires – ARGENTINA

10 de noviembre de 2011

PROGRAMA

14:00 - 14:10 Palabras de Bienvenida del Sr. Presidente de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica

Dr. Carlos M. Baratti

14:10 - 14:20 *Bioquímica Ambiental y Ecotoxicología modelo siglo XXI: nuevos caminos y desafíos*. **Prof. Dr. Alfredo Salibián**

14:20 - 14:35 *Esteroides y diferenciación sexual en el pejerrey bonaerense. Impacto de los disruptores endocrinos*. **Prof. Dr. Gustavo Somoza**

14:35 - 14:50 *Uso de biomarcadores en organismos acuáticos en la evaluación de impacto de agroquímicos en el Alto Valle del Río Negro*. **Prof. Dr. Andrés Venturino**

14:50 - 15:05 *Revisión y análisis de casos de estudios ecotoxicológicos realizados en el Centro de Investigaciones del Medio Ambiente*. **Prof. Dra. Alicia E. Ronco**

15:05 - 15:20 *Mecanismos de inmunotoxicidad dependientes del receptor de aryl hidrocarburo (AhR) y la vía de señalización NF-κB*. **Prof. Dr. Guillermo Blanco**

15:20 - 15:30 Intervalo

15:30 - 15:40 *Fármacos en el ambiente.* Lic. Yanina Elorriaga

15:40 - 15:50 *Biomarcadores de peces nativos y estandarizados: ensayos de campo como herramienta diagnóstica de la calidad de tres ríos periurbanos de la Prov. de Buenos Aires.* Dr. Fernando R. de la Torre

15:50 - 16:00 *Exposición ambiental a plaguicidas: biomarcadores en matrices no invasivas en el desarrollo intrauterino y la infancia.* Dra. María G. Rovedatti

16:00 - 16:10 *"Jenynsia multidentata" (Anablepidae, Cyprinodontiformes): Una especie centinela en aguas argentinas.* Dra. María V. Amé

16:10 - 16:20 *La Glicoproteína-P como un potencial biomarcador de exposición a xenobióticos.* Dr. Fabricio D. Cid

16:20 - 16:30 *Efectos de los andrógenos antropogénicos en la gonadogénesis del pejerrey.* Dr. Juan I. Fernandino

16:30 - 16:45 Mesa de Debate

16:45 - 17:00 Acto de entrega de Premios 2009 - 2010 de la Academia.

ANEXO VII

Seminario "Intoxicaciones Medicamentosas"

Buenos Aires – ARGENTINA

20 de octubre de 2011

PROGRAMA

15.00 - 15.30: Dr. Oscar Locani "Análisis de Medicamentos"

15:30 - 16:00: Dra. Ana María Perkins "Preparaciones Magistrales Anorexígenas. Consecuencias para la Salud"

16:00 - 16:30: Corte para Café

16:30 - 17:00: Dr. José Luis Lorenzo "Red de Laboratorios de Toxicología en las Intoxicaciones medicamentosas"

17:00-17:30: Acad. Manuel R. Limeres "Medicamentos Ilegítimos"

17:30 - 18:00: Mesa de Debate

ANEXO VIII

ENTIDADES COOPERADORAS DE LA ACADEMIA

FUNDACION FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

Laboratorios CASASCO SAIC.

Laboratorios ROEMMERS S.A.

GADOR SA

Laboratorios **SIDUS**

CAMARA INDUSTRIAL de LABORATORIOS FARMACEÚTICOS ARGENTINOS (CILFA)

Laboratorios **ABBOTT**

Laboratorios **BALIARDA SA**

Laboratorios **CRAVERI SAIC**

Laboratorios **BERNABO SA**

Laboratorios **BETA SA**

HLB PHARMA GROUP

Laboratorios **BAGO SA**

Laboratorios **ROUX-OCEFA**

Laboratorios **GRAMON**

Laboratorios **GLAXO-SMITHKLINE**

Laboratorios **MONSERRAT Y ECLAIR SA**

ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA INDUSTRIAL (SaFyBI)

CAMARA EMPRESARIA DE LABORATORIOS FARMACEUTICOS (COOPERALA)

PHOENIX SA

COLEGIO OFICIAL DE FARMACEUTICOS Y BIOQUIMICOS DE CAPITAL FEDERAL

Laboratorios **BRITANIA SA**

PRODUCTOS ROCHE SAQe I.

Laboratorios **SCHERING ARGENTINA**

Laboratorios **TEMIS-LOSTALO S.A.**

VALEANT PHARMACEUTICALS INT.

SANOFI AVENTIS

CAMARA ARGENTINA DE ESPECIALIDADES MEDICINALES (CAEME)

WIENER Lab. SAIC

Entidades Cooperadoras de la Academia

FUNDACIÓN FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Laboratorios **CASASCO S.A.I.C.**

Laboratorios **ROEMMERS S.A.**

Laboratorios **GADOR S.A.**

Laboratorios **SIDUS**

CÁMARA INDUSTRIAL de LABORATORIOS FARMACÉUTICOS

ARGENTINOS (CILFA)

Laboratorios **ABBOTT**

Laboratorios **BALIARDA S.A.**

Laboratorios **CRAVERI S.A.I.C.**

Laboratorios **BERNABO S.A.**

Laboratorios **BETA S.A.**

HLB PHARMA GROUP

Laboratorios **BAGO S.A.**

Laboratorios **ROUX-OCEFA**

Laboratorios **GRAMON**

Laboratorios **GLAXO- SMITHKLINE**

SAFYBI

CÁMARA EMPRESARIA DE LABORATORIOS FARMACÉUTICO (COOPERALA)

PHOENIX S.A.

COLEGIO OFICIAL DE FARMACÉUTICOS Y BIOQUÍMICO DE CAPITAL

FEDERAL

Laboratorios **BRITANIA S.A.**

PRODUCTOS ROCHE S.A.Q.e I.

Laboratorios **SHERING ARGENTINA**

Laboratorios **TEMIS-LOSTALO S.A.**

VALEANT PHARMACEUTICALS INT.

SANOFI AVENTIS

CÁMARA ARGENTINA DE ESPECIALIDADES MEDICINALES (C.A.E.M.E.)

La Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica
expresa su agradecimiento a las Entidades Cooperadoras que permiten el cumplimiento
de sus objetivos,
“la promoción y el progreso de las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas”,
y la publicación de la
“REVISTA FARMACÉUTICA” Y
“ANALES DE LA ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”