



ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

**MEMORIA
2014**

SUMARIO



ANALES 2014

| | |
|--|----|
| MEMORIA | 3 |
| JORNADAS | |
| 158º JORNADA CIENTÍFICA | 16 |
| “Anticuerpos Monoclonales: Desde la Génesis a la Aplicación” | |
| CONFERENCIAS | |
| CONFERENCIA DE INCORPORACION | |
| Dr. Alberto Gurni | 35 |
| “Las Formas De Las Plantas” | |
| Dr. Roberto Coco | 36 |
| “Mi Misión Y Visión Sobre Genética Y Reproducción” | |
| PREMIOS | |
| PREMIO “MARIA AMELIA ENERO” 2013 – FARMACOLOGIA | 38 |
| El Bloqueo Del Receptor At1 De La Angiotensina Ii Y La Inhibición Del Estrés Oxidativo Previene Los Efectos Nocivos Del Exceso De Sal En La Dieta Sobre Los Sistemas Cardiovascular Y Renal | |
| SL Della Penna*, MI Rosón*, M Choi*, C Cerrudo*, G Cao, A Fellet*, AM Balaszczuk*, E Zotta, Toblli JE, BE Fernández*. | |
| PREMIO “FRANCISCO CIGNOLI” 2013 - HISTORIA | 66 |
| Consideraciones Relativas A Los Códex Jesuíticos Y A Las Plantas Autóctonas Americanas De Uso Medicinal | |
| Prof. Ana María Perkins | |
| IN MEMORIAM | 93 |

CONSEJO DIRECTIVO

ASUNCIÓN DE NUEVAS AUTORIDADES

El 24 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: Presidente, Secretario, Tesorero, 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. Manuel R. Limeres |
| Vicepresidente: | Acad. Miguel Ángel Caso |
| Secretario General: | Acad. Horacio José Gabriel Mato |
| Prosecretario: | Acad. Marta M. Salseduc |
| Tesorero: | Acad. Alfredo Salibian |
| Protesorero: | Acad. Miguel D' Aquino |
| Vocales Titulares: | Acad. Carlos A. Gotelli Acad. Juan Pablo F.C. Rossi |
| Vocales Suplentes: | Acad. Carlos M. Baratti Acad. Modesto C. Rubio |
| Revisores de Cuentas: | Acad. Alfredo A. Hager Acad. Osvaldo Cascone Acad. Francisco Stéfano |

El Consejo Directivo realizó durante este período diez (10) reuniones y el Claustro Académico se reunió en siete (7) oportunidades. La nómina de las Comisiones y la composición de las Secciones figuran como anexos I y II.

NUEVOS ACADEMICOS

ACTOS DE INCORPORACION DE ACADEMICOS

El 13 de Noviembre se llevó a cabo el acto de incorporación del Académico Titular Alberto Gurni y el 11 de diciembre el del Académico Roberto Coco.

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 V.

Se votó la incorporación de la Dra. Virginia Martino que asumirá en el mes de mayo de 2015.

“IN MEMORIAM”

Durante este año hubo que lamentar el fallecimiento del Académico Titular Eduardo Luis Diaz, el Académico Correspondiente Hugo Pérez cuyas semblanzas realizó el Académico Titular Miguel D’Aquino; el Académico Emérito Antonio Somaíni semblanza a cargo del Académico Titular Carlos Bregni y Académico Emérito Héctor Chechile semblanza a cargo de Académico Titular Maria Guillermina Volonté.

PREMIO TRIANUAL

El 25 de setiembre de 2014 se otorgó el Premio Triannual Academia 2014 a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología (ANMAT).

PREMIOS

En la 158ª Jornada Científica: “**Anticuerpos Monoclonales: Desde la Génesis a la Aplicación**”, realizado el 7 de agosto del corriente año

PREMIO ANUAL 158º JORNADA CIENTÍFICA

Anticuerpos monoclonales: Aplicaciones del MAb anti-CD44 clon IM7.

Lompardía Silvina L, Mascaró Marilina, Díaz Mariángeles, Pibuel Matías

Ver anexo IV

ACCESIT AL PREMIO 158º JORNADA CIENTÍFICA:

Farmacoepidemiología del Rituximab en un hospital pediátrico de alta complejidad

Marcela Rousseau, Gabriel Molina

PREMIOS 2014

Se otorgó el Premio 2013:

PREMIO MARIA AMELIA ENERO

“El bloqueo del receptor at1 de la angiotensina ii y la inhibición del estrés oxidativo previenen los efectos nocivos del exceso de sal en la dieta sobre los sistemas cardiovascular y renal”

SL Della Penna*, MI Rosón*, M Choi*, C Cerrudo*, G Cao[&], A Fellet*, AM Balaszczuk*, E Zotta[§], Toblli JE[&], BE Fernández*. (ANEXO VI)

PREMIO FRANCISCO CIGNOLI

“Consideraciones relativas a los códex jesuíticos y a las plantas autóctonas americanas de uso medicinal”

Ana María Perkins (ANEXO VI)

Se declararon **desiertos** los Premios Berisso (Ecología) y Manjón (Farmacotecnia). No hubo presentaciones a los Premios Bandoni (Fitoquímica), Colobrero (Bromatología y Nutrición), Rossignoli (Fisicoquímica), Rusquellas (Microbiología general).

CONFERENCIAS

DE INCORPORACION COMO ACADEMICO TITULAR

El día 13 Noviembre se celebró en el Salón de Conferencias “Pbro. Antonio Sáenz” la incorporación del Dr. Alberto Gurni como Académico Titular. Este brindó una conferencia titulada **“La forma de las plantas”**. Fue presentado por el Académico Titular Miguel D’Aquino. (anexo V)

El día 11 Diciembre se celebró en el Salón de Conferencias “Pbro. Antonio Sáenz” la incorporación del Dr. Roberto Coco como Académico Titular. Este brindó una conferencia titulada **“La genética reproductiva: mi visión”**. Fue presentado por el Académico Titular Marcos Pizzolato. (anexo V)

REUNIONES CIENTIFICAS

El 7 de agosto se llevó a cabo las 158^o Jornada Científica titulada **“Anticuerpos Monoclonales: Desde la Génesis a la Aplicación”**, coordinada por la Académica Sivia Hajos y el Académico Alberto Díaz. (Anexo IV)

COLOQUIOS

Se realizaron tres coloquios a cargo de

Acad. Titular Carlos M Baratti: “Desafíos de las Neurociencias para las próximas décadas. Será el siglo XXI el siglo del cerebro?”

Acad. Titular Carlos Gotelli: “Cáncer Ocupacional. Vistas y realidades”

Acad. Titular Juan Pablo Rossi: “La combinación de los azúcares con las biomoléculas”

La Comisión de Ciencias Farmacéuticas ha decidido elaborar un Documento sobre **“Reemplazos farmacéuticos que contribuyen a la supresión del hábito de fumar”**, el mismo estará a cargo del Acad. Francisco Stefano y se espera su conclusión para el primer semestre del año próximo.

digitalizacion de la revista farmaceutica

Con la colaboración de la Biblioteca de la Facultad de Medicina que aportó muchos números digitalizados (años 1858 a 2007), la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica va a completar la digitalización de todos los números utilizando el scanner y la computadora donados por la Fundación René Baron.

Los números faltantes se buscarían en el Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires, la Universidad de La Plata y Colegio Farmaceutico

AIAF 2015

Se ha confirmado la participación de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica en la AIAF 2015 a realizarse en Barcelona del 25 al 27 de marzo de 2015.

Participarán como ponentes el Presidente, Académico Titular Manuel Limeres y el Secretario, Académico Titular Gabriel Mato. Concurrirá el Académico Titular Marcelo Nacucchio.

PROYECTO DE LEY 0324 D - 2014

El 28 de agosto concurrieron a una reunión con la Diputada Andrea García, el Presidente Acad. Manuel Limeres y el Secretario Acad. Gabriel Mato para tratar el tema del proyecto de Ley 0324 D -2014 presentado por la Diputada Alicia Comelli que incluirá la contribución del Estado para la Academia en el presupuesto anual de la Nación(anexo del Ministerio de Educación) de acuerdo a lo previsto por el Art. 4° del Decreto ley 4362/55.

Con anterioridad se habían mantenido reuniones con el diputado Federico Pinedo y el ministro de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva Dr. Lino Barañao y el secretario de Articulación Científico Tecnológica, Dr. Alejandro Ceccatto. Por el mismo tema se envió una carta al embajador argentino en el Vaticano Dr. Eduardo Valdés.

En el mes de noviembre la secretaria de la diputada García informó que en su nombre y el del diputado Julián Domínguez se comprometían al tratamiento del proyecto antes de fin de año.

El 15 de diciembre de 2014 por orden del día 1633 se da media sanción, en diputados, al proyecto de ley que pasa al senado de la Nación.

MAGNUS

El 23 de octubre de 2015 la Academia recibió el Magnus, Reconocimiento de la Sociedad Argentina a los Referentes del Cambio a las Academia Nacionales. La ceremonia se realizó en la Asociación Médica Argentina. El Presidente Acad. Manuel Limeres recibió la escultura Magnus de manos del Dr. Roberto Lugones (h).

En la XX entrega se cerró la caja temática "Bitácora para el Tricentenario" que se abrirá el 25 de mayo de 2110 en la que la Academia dejó el testimonio del Primer y último número de la "Revista Farmacéutica" y un pendrive con los números escaneados hasta la fecha.

AUSPICIOS DE LA ACADEMIA A REUNIONES CIENTÍFICAS

Asociación Argentina de Microbiología con motivo de la realización de la XV JORNADA ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA.

2° Congreso Argentino de Espectrometría de Masa (II CAEM)organizado por la Sociedad Argentina de Espectrometría de Masa

Publicación del libro “Radiofármacos: del laboratorio al Paciente”, de los Dres. Carlos Cañellas, María Jimena Salgueiro y Marcela Zubillaga editado por Editorial EUDEBA

Curso de Postgrado: Nutrición en Neonatología organizado por el Instituto Argentino de Educación e Investigación en Nutrición IAEDIN.

Ateneos Científicos de Nutrición, aprobados por el Comité de docencia del Instituto Argentino de Diagnostico (IADT) organizado por la Cátedra de la FFyB-UBA y por el Instituto Argentino de Educación e Investigación en Nutrición IAEDIN.

Workshops “Implementation of Biowaivers based on the Biopharmaceutics Classification System”, coorganizado por el Focus Group on BCS and Biowaivers de la International Pharmaceutical Federation (FIP) y las cátedras de control de calidad de Medicamentos y Toxicología Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata

RELACIONES CON OTRAS ACADEMIAS NACIONALES

Se mantiene una relación directa, asistiendo a la mayoría de las incorporaciones y actos programados, a los que fue invitada la Academia. En forma especial merece destacarse:

Academia Nacional de Periodismo: asistencia al Acto de Incorporación de Nuevos Académicos realizado en la Biblioteca Nacional el 4 de junio. Asistieron el Presidente, Vicepresidente y Acad. Squassini.

Academia Nacional de Medicina: VI Conferencia Anual Academia Nacional de Medicina a cargo del Dr. Pedro Luis Barcia sobre “Los rasgos de identidad de los argentinos” realizada el 10 de junio.

Academia Nacional de Ciencias ECONOMICAS: Centenarios de la Creación de la Academia realizada el 21 de mayo. Asistieron el Presidente y Vicepresidente

Academia de historia el 11-6 asistió el Vicepresidente

Academia Nacional de Ciencias de la Empresa incorporación del Lic. Sebastián Bagó el 6 de agosto. Asistieron Presidente, Vicepresidente y Acad. Squassini

Academia Nacional de Medicina y La Prensa Medica Argentina 5° Acto del Ciclo CIENTIFICO Cultura 2014 “Conferencia Mariano Castex” el día 19 de agosto Asistieron Vicepresidente y Squassini

Academia Nacional de Medicina en forma conjunta con la Academia Nacional de Derecho y Ciencias Sociales de Bs.As., la Academia Nacional de Ciencias Morales y Políticas y la Academia Nacional de Periodismo 6° Acto del Ciclo Científico Cultural 2014. Asistieron Presidente y Vicepresidente

Academia Nacional de Ciencias. Conferencia organizada por el Centro Interdisciplinario de Investigaciones Forenses de la Academia sobre “Autopsia de la historia a cargo del Dr. Lossetti el 9 de setiembre. Asistió el Vicepresidente.

Academia Nacional de la Historia incorporación del académico de número Hernán Otero el 14 de octubre. Asistió el Dr. Caso

•

RELACIONES CON OTRAS INSTITUCIONES Y PARTICIPACIONES EN CONGRESOS

- El Dr. Limeres concurre a la celebración del 50° Aniversario de CILFA.
- El 17 de junio audiencia con el Dr. Ceccato Secretario de Ciencia y Técnica-Mincyt
- Fundación Rene Baron entrega un scanner profesional y una computadora a utilizarse en la digitalización de la Revista Farmacéutica.
- Academia Nacional de la Empresa acto de creación del sitio Sebastián Bago que será ocupado por su hijo. Asistieron los acad. Limeres, Caso, Mato, Salseduc y Los.
- Acto de Colación de grado de la FFyB-UBA 12/9/2014
- Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímico de la Capital Federal – Celebración del Día del Bioquímico. Asisten Squassini, Caso y Limeres
- Cena CILFA realizada el 3-6. Asistió el Presidente
- Instituto Nacional Belgraniano conmemoración del 202° aniversario del Éxodo Jujeño el 25 de agosto. Concurrió el Vicepresidente.
- Instituto Nacional Belgraniano conmemoración del 202° aniversario la Batalla de TUCUMAN el 24 de setiembre. Concurrió el Vicepresidente.
- Asociación Bioquímica Argentina celebración de 80° aniversario el día 17 de setiembre. Asistieron Presidente y Vicepresidente
- Cena de SAFYBI el 5 de diciembre. Asistieron el presidente Dr. Limeres y el Profesor D´Aquino
- Sociedad Científica Argentina Conmemoración del 142° Aniversario de su Fundación. Entrega el Premio Consagración Andrés Stoppani 2014 al Dr. Rodolfo Brenner, acad. Titula de la ANFyB el 4 de diciembre. Asistieron los académicos Limeres, Pizzolato y Biscoglio.

PUBLICACIONES

Revista Farmacéutica 156nº 1 (2014) versión electrónica.

Anales de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica (Año 2013) versión electrónica.

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 VII).

ACTO DE FIN DE AÑO

El 12 de diciembre tuvo lugar en la sede de nuestra Academia el brindis de Fin de Año.

•

ANEXO I

COMISIONES 2014

(Por orden alfabético)

Publicaciones

Acad. Dr. Modesto Rubio (Coordinador), Acad. Marcelo C. Nacucchio, Acad. María Luz Pita Martín, Acad. Marta Salseduc, Acad. Alfredo Salibian

Premios y Distinciones

Acad. Carlos M. Baratti (Coordinador), Acad. Clyde N. Carducci, Acad. Osvaldo Cascone, Acad. Miguel A. Caso, Acad. Alfredo A. Hager, Acad. Mario Los, Acad. Alfredo Salibián

Relaciones Públicas, Vinculaciones y Finanzas

Acad. Miguel A. Caso (Coordinador), Acad. Miguel D´Aquino, Acad. Alfredo Salibian y Acad. Marcelo Squassini.

Estatuto y Reglamento

Acad. Gabriel Mato (Coordinador), Acad. Juan Pablo Rossi, Acad. Modesto C. Rubio y Acad. Carlos Gotelli

ANEXO II

MIEMBROS

ACADÉMICOS TITULARES

Acad. María Cristina Añón
Acad. Carlos M. Baratti
Acad. Mirta J. Biscoglio
Acad. Alberto A. Boveris
Acad. Carlos Bregni
Acad. Rodolfo Brenner
Acad. Nestor O. Caffini
Acad. Clyde N. Carducci
Acad. Ricardo A. Caro
Acad. Osvaldo Cascone
Acad. Miguel A. Caso
Acad. Miguel D' Aquino
Acad. Tomás de Paoli
Acad. Luis Eduardo Diaz †
Acad. Carlos H. Gaozza
Acad. Hector I. Giuliani
Acad. Gabriel O. Gutkind
Acad. Carlos A. Gotelli
Acad. Alfredo A. Hager
Acad. Silvia Hajos
Acad. Manuel Limeres
Acad. Mario A. Los
Acad. Horacio José Gabriel Mato
Acad. Marcelo C. Nacucchio
Acad. María Luz Pita Martín dePortela
Acad. Marco Pizzolato
Acad. Edgardo Poskus
Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Juan Pablo F.C. Rossi
Acad. Modesto C. Rubio
Acad. Alfredo Salibian
Acad. Marta M. Salseduc
Acad. José Alberto Santomé
Acad. Francisco J.E. Stefano
Acad. María Guillermina Volonté
Acad. Regina L. W. de Wikinski

ANEXO II

ACADEMICOSCORRESPONDIENTES

ARGENTINA

Acad. Marcelo O. Cabada
Acad. Alberto Diaz
Acad, Jorge Errecalde
Acad. Oscar H. Fay
Acad. Raul C. Fazio
Acad. Pesce de Ruiz Holgado
Acad. Guillermo R. Lossa
Acad. Ruben H. Manzo
Acad. Modesto P. Montecchia
Acad. Aldo D. Mottino
Acad. Elsa M. Nadalin
Acad. Jorge O. Nicolini
Acad. Otto A. Orsingher
Acad. Ana Maria Pechen D'Angelo
Acad. Gabriela Del Valle Perdigón
Acad. Clelia M. Riera
Acad. Daniel O. Sordelli
Acad. Marcelo D. Squassini

ALEMANIA

Acad. Pablo Steinberg

BRASIL

Acad. Aluísio Pimenta
Acad. Caio Romero Cavalcanti

CHILE

Acad. Aquiles Arancibia Orrego
Acad. Marco A. Montes Guyot
Acad. Rosa I. Morán Gana
Acad. Wanda Quilhot Palma

COLOMBIA

Acad. Fleming Martínez Rodríguez

CUBA

Acad. Ricardo Galvis
Acad. Héctor Zayas Bazan Y Perdomo

ECUADOR

Acad. Julio F. Araoz
Acad. Eduardo Goetchel

ANEXO II

ACADEMICOSCORRESPONDIENTES

ESPAÑA

Acad. María del Carmen FrancésCausapé

Acad. Tomás AdzetPorredón

Acad. Francisco Zaragoza García

Acad. Eduardo MariñoHernández

Acad. Miguel Ylla Catalá Genis

Acad. Antonio Monge Vega

ESTADOS UNIDOS

Acad. Jorge R. Barrio

Acad. Jorge D. Brioini

Acad. Marcel E. Nimni

FRANCIA

Acad. Jean Marc Aïache

Acad. Paul Fleury

Acad. Carlos Soto

ITALIA

Acad. Stefano Govoni

MEXICO

Acad. Pedro Joseph Nathan

PANAMA

Acad. Ceferino Sánchez

PARAGUAY

Acad. Luis H. Berganza

PERU

Acad. Bertha Pareja Pareja

Acad. Fernando Quevedo Ganoza

Acad. José Amiel Pérez

VENEZUELA

Acad. José Luis Andrade

URUGUAY

Acad. Jorge Ares Pons

Acad. Cayetano Cano Marotta

Acad. Cosme de los Santos Carvallido

Acad. Uberfil Delbene Garate

Acad. Pietro Fagiolino

Acad. Raquel Lombardo de Bertolaza

Acad. Justo Emilio Menes

Acad. Patrick Moyna

Acad. Anibal Alberto Olmos Ferreira

Acad. Oscar Polla Bermudez

Acad. Joaquin E. RoyerMeicoso

ANEXO II

ACADEMICOS EMERITOS

Acad. Sem M. Albonico
Acad. Arnaldo L. Bandoni
Acad. Jorge D. Coussio
Acad. Mateo Chekherdemian
Acad. Enrique Iovine
Acad. Ronaldo Meda
Acad. Horacio B. Rodríguez

ACADEMICOS HONORARIOS

ARGENTINA

Acad. Juan Carlos Bagó

BRASIL

Acad. Evaldo De Oliveira

ESPAÑA

Acad. Benito del Castillo García
Acad. María Teresa Miras Portugal
Acad. Federico Mayor Zaragoza

ITALIA

Acad. Rodolfo Paoletti

ANEXO II

SECCIONES

- A) SECCION CIENCIAS BIOQUIMICAS (19 miembros)
- B) SECCION CIENCIAS BASICAS (9 miembros)
- C) SECCION CIENCIAS FARMACEUTICAS (17 miembros)

SECCION A: CIENCIAS BIOQUIMICAS

Acad. María Cristina Añón
Acad. Mirtha Biscoglio
Acad. Rodolfo Brenner
Acad. Néstor O. Caffini
Acad. Osvaldo Cascone
Acad. Roberto Coco
Acad. Héctor I. Giuliani
Acad. Silvia Hajos (**Coordinador Alterno**)
Acad. Ronaldo Meda
Acad. María L. Pita Martín de Portela
Acad. Marco Pizzolato
Acad. Edgardo Poskus
Acad. Otmaro E. Roses
Acad. Juan Pablo F.C. Rossi (**Coordinador**)
Acad. Alfredo Salibian
Acad. José A. Santomé
Acad. Daniel Sordelli
Acad. Regina L.W. de Wikinski

- **SECCION B: CIENCIAS BASICAS**

Acad. Alberto A. Boveris

Acad. Clyde N. Carducci

Acad. Ricardo A. Caro

Acad. Luis E. Díaz

Acad. Tomas De Paoli

Acad. Carlos H. Gaozza

Acad. Carlos A. Gotelli (**Coordinador**)

Acad. Alfredo A. Hager (**Coordinador alternativo**)

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. Alberto Gurni

Acad. Gabriel O. Gutkind

Acad. Manuel R. Limeres

Acad. Mario A. Los

Acad. Horacio J. G. Mato

Acad. Marcelo C. Nacucchio

Acad. Rubén V. D. Rondina

Acad. Modesto C. Rubio (**Coordinador**)

Acad. Marta M. Salseduc (**Coordinador alternativo**)

Acad. Francisco J. E. Stefano

Acad. Marcelo Squassini

Acad. María Guillermina Volonté

ANEXO IV

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Sala de conferencias: "Pbro. Antonio Sáenz"
158° JORNADA CIENTIFICA
"Anticuerpos Monoclonales: Desde la Génesis a la Aplicación"
Comisión Organizadora
Acad. Alberto Diaz - Acad. Carlos Gotelli,
Acad. Juan Pablo Rossi - Acad. Modesto C. Rubio
Coordinadores
Acad. Silvia Hajos y Acad. Alberto Diaz
Buenos Aires – Argentina
7 de agosto de 2014
PROGRAMA

| | |
|---------------|---|
| | COORDINADORA: Académica Silvia Hajos |
| 10.00 a 10.10 | Palabras introductorias: Sr. Presidente de la Academia Acad. Manuel Limeres |
| 10.10 a 11.00 | "Los anticuerpos monoclonales Historia y Génesis". Dr. Carlos Alberto Fossati, Inv. Superior CONICET, IDEHU, Cátedra de Inmunología – FFyB-UBA |
| 11.05 a 11.40 | "La aplicación de los Anticuerpos Monoclonales a la resolución de problemas de la investigación científica", Dr. Pablo C. Baldi, IDEHU, Cátedra de Inmunología – FFyB-UBA |
| 11.40a 11.50 | Café |
| 11.50 a 13.00 | Disertación de jóvenes expositores (10 minutos por expositor) |
| 13:00 a 14:00 | receso |
| | COORDINADOR: Académico Alberto Diaz |
| 14.00 – 14.30 | "Terapias dirigidas con Anticuerpos Monoclonales: Antecedentes y Perspectivas" Dr. Gustavo Helguera, IBYME - CONICET |
| 14.30 – 15.00 | "Terapias contra blancos moleculares en oncología beneficios, riesgos y engaños" Dr Ernesto Gil Deza Director de Investigación y Docencia-Instituto Oncológico Henry Moore-Universidad del Salvador |
| 15:00 – 15:30 | La esclerosis múltiple: desmielinización y remielinización" Dra. Patricia Mathieu, IQUIFIB, Cátedra de Química Biológica Patológica.- FFyB-UBA |
| | Café |
| 15:45 – 16:15 | "Desde la inmunoquímica a la potencialidad terapéutica: Anticuerpos destinados al tratamiento de patologías que cursan con incremento en la producción de INF- α " Dr. Marcos Oggero Eberhardt, Universidad Nacional del Litoral. |
| 16:15 – 16:45 | "Ejercicio de comparabilidad en anticuerpos monoclonales terapéuticos" Dr. Leonardo G. Alonso. Fundación Instituto Leloir |
| 16:50 – 17:30 | Mesa Redonda de especialistas. "Presente y Futuro de los Anticuerpos Monoclonales". Coordinador, Acad. Alberto Díaz |

“Los anticuerpos monoclonales Historia y Génesis”

Dr. Carlos Alberto Fossati.

Inv. Superior CONICET, IIFP (CONICET-UNLP). Profesor Titular Inmunología. FCE, UNLP

El desarrollo de la metodología de producción de anticuerpos monoclonales es el resultado de conocimientos fundamentales desarrollados para contestar preguntas básicas sobre la generación, estructura y el funcionamiento de los anticuerpos.

Los anticuerpos habían sido descubiertos a finales del siglo XIX, posteriormente se estableció que cada anticuerpo era capaz de interactuar con un ligando único, pero recién en la década de 1960 se logró establecer que los linfocitos eran las células que los producían.

Como consecuencia una de las primeras preguntas que surgió para entender este sistema fue: ¿Cuáles son los mecanismos que permiten a esas células generar millones de proteínas específicas, cada una capaz de unirse perfectamente a un solo determinante antigénico? Cabe destacar que el sistema inmune humano posee alrededor de 10^{12} linfocitos (aproximadamente el 1% de nuestro peso corporal).

En 1954 Niels K. Jerne, en contraposición a las teorías vigentes, propone que los antígenos no “instruyen” a las células para formar un anticuerpo específico, sino que “seleccionan” anticuerpos preformados. Poco después, Frank Macfarlane Burnet perfecciona este concepto formulando la “teoría de la selección clonal”, que le valiera el Premio Nobel en 1960. Jerne creía que los linfocitos B deberían sufrir cambios somáticos para producir los anticuerpos. Como consecuencia, poco después de crear el Basel Institute for Immunology, apoyó fuertemente las ideas de Susumu Tonegawa quien abordó el problema estudiando directamente los genes de inmunoglobulinas, cuyos resultados le permitieron recibir el Premio Nobel en 1987.

Mientras tanto César Milstein también estaba interesado en dilucidar los mecanismos de generación de la diversidad de anticuerpos mediante el estudio de la estructura de diferentes anticuerpos. Había comenzado usando células B transformadas (mielomas adaptados a crecer in vitro) para obtener suficiente cantidad de anticuerpo para su caracterización química. También fusionaban mieloma-mieloma para generar células híbridas que secretaran simultáneamente diferentes anticuerpos así como anticuerpos híbridos. Habitualmente los mielomas fabrican baja cantidad de anticuerpos cuya especificidad no puede ser determinada.

En 1970 Milstein dicta un seminario en el Basel Institute, invitado por Jerne, donde Georges Köhler realizaba una pasantía y a partir de allí este se trasladó al MRC de Cambridge como estudiante posdoctoral. Milstein y Köhler comenzaron inmunizando ratones con eritrocitos de carnero, colectaron las células del bazo (conteniendo muchísimas células B activadas) y las fusionaron con células de uno de los mielomas usados en el laboratorio. Las células productoras de anticuerpos específicos fueron detectadas por el ensayo de “células formadoras de placas” previamente desarrollado por Jerne.

A partir de allí surgió la primera publicación que permitió, por primera vez, la producción de grandes cantidades de anticuerpos puros, específicos para un solo determinante - *Kohler, G. & Milstein, C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predetermined specificity. Nature 256, 495–497 (1975)* - que finalmente desembocaría en la adjudicación del Premio Nobel de Medicina o Fisiología 1984, para Jerne, Milstein y Köhler.

Es claro que ninguno de los tres científicos involucrados en este descubrimiento tuvo la intención de generar anticuerpos monoclonales, en cambio, intentaban satisfacer una centuria de curiosidad científica acerca de la capacidad del sistema inmune de enfrentar invasores impredecibles.

Es sí, el resultado de la convergencia de tres científicos enfocados en resolver problemas fundamentales, trabajando en diferentes lugares y con diferentes enfoques.

A partir de allí la historia es bien conocida. Nosotros comenzamos, a partir de 1982, la producción de anticuerpos monoclonales en el país, en la Cátedra de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, posteriormente Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), por iniciativa del Dr. R. A. Margni quien buscó las condiciones iniciales para ese desarrollo.

En esta oportunidad describiremos los conceptos generales, los mecanismos y las técnicas que permiten la producción de anticuerpos monoclonales, algunas aplicaciones y perspectivas de estas proteínas.

“La aplicación de los Anticuerpos Monoclonales a la resolución de problemas de la investigación científica”,

Dr. Pablo C. Baldi,

IDEHU, Cátedra de Inmunología FFYB

Nuestro laboratorio se aboca desde hace varios años al estudio de antígenos y factores de virulencia de *Brucella* spp. Estas bacterias, causantes de la enfermedad conocida como brucelosis, exhiben la capacidad de vivir y replicarse dentro de células del hospedador. Esta característica hace que la infección tienda a la cronicidad, especialmente si no es tratada. Las pruebas serológicas, basadas mayoritariamente en la detección de anticuerpos contra el lipopolisacárido (LPS) bacteriano, constituyen los métodos de laboratorio más utilizados para detectar la infección, pero su confiabilidad se ve limitada por algunas características de dichos anticuerpos, incluyendo: a) persistencia prolongada en personas clínicamente curadas, b) presencia en personas expuestas a la bacteria pero que no desarrollan enfermedad. Esto llevó a nuestro grupo a evaluar el posible valor diagnóstico de proteínas citosólicas de *Brucella*. Sin embargo, nuestros primeros estudios indicaron que la fracción citosólica de la bacteria contiene gran cantidad de LPS contaminante. Dado que el LPS de *Brucella* no puede eliminarse por unión a Polimixina B (por su baja afinidad), decidimos preparar una columna de inmunoadsorción (cromatografía de afinidad) con un anticuerpo monoclonal (MAb) anti-LPS. Se obtuvo en primer término el MAb (BC68) mediante un protocolo clásico de fusión de esplenocitos de ratones inmunizados con LPS y células de mieloma. Dicho MAb se acopló a Sepharosa 4B para construir una columna de inmunoafinidad. A través de esa matriz se hizo pasar fracción citosólica cruda de *Brucella abortus*, de forma tal que el LPS contaminante quedó retenido en el inmunoadsorbente mientras que las proteínas citosólicas libres de LPS eluyeron. El antígeno así obtenido, denominado CP, fue utilizado con éxito para el diagnóstico de la brucelosis humana y animal en ensayos de ELISA. Estos resultados nos alentaron a intentar aislar alguna proteína particular de *B. abortus* con iguales propiedades diagnósticas. Fue así que se obtuvo el MAb BI24, dirigido contra una proteína de *Brucella* de 18 kDa que más tarde fue identificada como una lumazina sintetas (BLS). El anticuerpo BI24 fue útil para caracterizar preliminarmente las propiedades diagnósticas de BLS antes de lanzarse a su obtención en forma recombinante. Con dicho monoclonal se diseñó un ELISA de captura antigénica que permitió determinar que el ELISA con BLS tiene muchas de las bondades del ELISA con CP.

Además del uso con fines diagnósticos antes descrito, hemos utilizado MAbs en nuestras investigaciones sobre factores de virulencia de *Brucella* spp. El genoma de *Brucella* incluye un operón VirB homólogo al que en otras bacterias codifica un sistema de secreción denominado tipo IV (SST4). Se sabe que las cepas de *B. abortus* mutadas en genes virB tienen una capacidad reducida o nula de replicarse intracelularmente, lo cual sugiere que el SST4 secreta factores esenciales para la virulencia de la bacteria. Para tratar de identificar tales factores realizamos un análisis comparativo por electroforesis bidimensional de sobrenadantes de cultivo de *B. abortus* cepa salvaje y su mutante isogénica delecionada en el gen virB10. Esto nos permitió detectar proteínas presentes en la cepa salvaje pero ausentes en la mutante (spots diferenciales), que serían factores cuya liberación al medio de cultivo depende de la expresión del SST4. La identidad de esas proteínas diferenciales se determinó por MALDI-TOF. Si bien se identificaron 11 spots diferenciales, por diversas razones (función biológica, homología con factores conocidos, etc.) centramos nuestra atención en 3 de esas proteínas: chaperona DnaK, colilglicina hidrolasa (CGH), y peptidil-prolil cis-trans isomerasa (PPIasa). Para confirmar que la liberación de estas proteínas al medio de cultivo depende de la expresión del SST4 decidimos analizar por Western blot los sobrenadantes de cultivo bacteriano de la cepa salvaje y la cepa mutante utilizando MAbs específicos para cada proteína. Para ello obtuvimos las proteínas en forma recombinante y las utilizamos para inmunizar ratones, a partir de cuyos esplenocitos derivamos los MAbs de interés. Al analizar los sobrenadantes de cultivo por Western blot, revelando en paralelo con cada MAb las calles correspondientes a la bacteria parental y a la mutante virB10, pudimos observar en cada caso la presencia de reactividad en la primera pero su ausencia en la segunda, confirmando entonces que la liberación de estas 3 proteínas al medio de cultivo depende de la expresión de un SST4 funcional.

Estos ejemplos seleccionados ilustran algunos de los posibles usos de los MAbs para resolver problemas de investigación básica en el laboratorio.

“TERAPIAS DIRIGIDAS CON ANTICUERPOS MONOCLONALES: ANTECEDENTES Y PERSPECTIVAS”

Dr. Gustavo Helguera

IBYME – CONICET

Mail: gustavoh@ibyme.conicet.gov.ar

Los anticuerpos son proteínas producidas por el sistema inmune para combatir patógenos que han sido ampliamente reconocidas por su exquisita especificidad. A fines del siglo XIX y principios del siglo XX Paul Ehrlich postuló la teoría de las “cadenas laterales” (Seitenkettentheorie) para describir la especificidad de los anticuerpos y puso en relevancia su selectividad llamándolos “balas mágicas”. Llevó más de medio siglo hasta que en 1975 César Milstein desarrollara la tecnología de hibridoma que resultó en la creación de los anticuerpos monoclonales (Kohler y col. 1975). Esta tecnología consiste en inmortalizar, aislar y expandir clones de células B individuales. El producto de estas nuevas líneas celulares son anticuerpos con una única especificidad de unión a un antígeno conocido, desarrollo que abrió una nueva era en la bioquímica y la medicina. Sin embargo esta primera generación de anticuerpos monoclonales por hibridomas consistían en proteínas derivadas de ratón, por lo que resultaron ser demasiado inmunogénicas para su uso en la clínica. Avances en la ingeniería genética mediante la tecnología del ADN recombinante permitieron introducirles segmentos de secuencia humana y superar el problema de la inmunogenicidad de los anticuerpos producidos en roedores, logrando que tengan actividad efectora inmune humana. Desde los años 90 el desarrollo de nuevas generaciones de anticuerpos monoclonales quiméricos, humanizados y totalmente humanos ha permitido que finalmente se incorporen a la clínica como agentes terapéuticos altamente efectivos y con bajos efectos secundarios (Helguera y col. 2010). La introducción de nuevas modificaciones como la conjugación con toxinas o el desarrollo de fragmentos funcionales han ampliado aún más el uso potencial de anticuerpos monoclonales como agentes terapéuticos dirigidos (Helguera y col. 2010). Como consecuencia de estos progresos, de 1992 a 2013 unos 34 anticuerpos monoclonales han sido aprobados y están en uso en la clínica en el mundo, con cerca de 350 en desarrollo a nivel global. Sus aplicaciones abordan el tratamiento de una variedad de condiciones que incluyen enfermedades infecciosas, trastornos inflamatorios y cáncer, constituyendo una de las clases de drogas de más rápido crecimiento en la biofarmacia (Elvin y col. 2013). Un ejemplo de un anticuerpo monoclonal terapéutico en desarrollo contra enfermedades infecciosas constituye ch128.1, un anticuerpo quimérico dirigido contra el receptor de transferrina humano. Este receptor es la vía de entrada del virus Junín, agente causal de la Fiebre Hemorrágica Argentina, y de otros virus causantes de las Fiebres Hemorrágicas Brasileña, Boliviana y Venezolana, todos los cuales pueden ser mortales. Este anticuerpo de alta afinidad compite por el mismo sitio de unión de los virus y bloquea su entrada a las células humanas, reduciendo significativamente la infectividad del virus Junín *in vitro* (Helguera y col. 2012). Estos estudios sugieren que anticuerpos de la clase de ch128.1 pueden resultar en una opción terapéutica de amplio espectro contra las Fiebres Hemorrágicas Sudamericanas. La próxima generación de anticuerpos terapéuticos apunta a extender aún más las actividades biológicas intrínsecas de estas moléculas y/o introducirles nuevas propiedades. Como ejemplo podemos nombrar los anticuerpos de fusión con agentes inmunomoduladores contra el cáncer como interleuquina-2 (IL-2), IL-12 o GM-CSF (Helguera y col. 2006). La generación de estas proteínas de fusión contra el cáncer tiene como propósito concentrar citoquinas inmunoestimuladoras en el microambiente del tumor, mejorar el efecto tumoricida del anticuerpo y/o favorecer la respuesta inmune contra el tumor, permitiría bajar la dosis de citoquinas y limitar los efectos secundarios asociados con su administración sistémica en altos niveles (Helguera y col. 2002). Citoquinas inmunoestimuladoras fusionadas a IgGs con la región variable de trastuzumab han demostrado que pueden proteger contra tumores que expresan HER2/*neu* y extender la supervivencia de solo 24 días para animales tratados con el anticuerpo libre a una supervivencia promedio de más de 320 días para la combinación de anticuerpos con citoquinas fusionadas. La protección incluyó el desafío con tumores que expresan HER2/*neu* y con el tumor que no expresaba el antígeno blanco, sugiriendo que la combinación de citoquinas con anticuerpos puede romper tolerancia contra el tumor e inducir respuesta inmunológica de largo plazo, protegiendo contra mecanismos de evasión tumoral como la down-regulation del antígeno blanco (Helguera y col. 2007). Estos anticuerpos se suman a una nueva generación de terapéuticos que prometen ir aún más allá de las “balas mágicas” que hace más de un siglo soñó Paul Ehrlich.

Anales 2014 – MEMORIA – Anexo IV

BIBLIOGRAFÍA

- Elvin JG, Couston RG, van der Walle CF. Therapeutic antibodies: market considerations, disease targets and bioprocessing. *Int J Pharm.* 2013 Jan 2; 440(1):83-98. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.12.039.
- Helguera G, Morrison SL, Penichet ML. Antibody-cytokine fusion proteins: harnessing the combined power of cytokines and antibodies for cancer therapy. *Clin Immunol.* 2002 Dec; 105(3):233-46.
- Helguera G., Rodriguez, J.A., and Penichet, M.L. 2006. Cytokines fused to antibodies and their combinations as therapeutic agents against different peritoneal HER2/neu expressing tumors. *Mol Cancer Ther* 5:1029-1040.
- Helguera G, Rodríguez JA, Daniels TR, Penichet ML. Long-term immunity elicited by antibody-cytokine fusion proteins protects against sequential challenge with murine mammary and colon malignancies. *Cancer Immunol Immunother.* 2007 Sep; 56(9):1507-12.
- Helguera G, Daniels TR, Rodríguez JA y Penichet ML (2010) Monoclonal Antibodies, Human Engineered. In: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology.* Edited by M. Flickinger. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, vol. 5, pages 3526-3542. ISSN: 9780471799306.
- Helguera G, Jemielity S, Abraham J, Cordo SM, Martinez MG, Rodríguez JA, Bregni C, Wang JJ, Farzan M, Penichet ML, Candurra NA, Choe H. An antibody recognizing the apical domain of human transferrin receptor 1 efficiently inhibits the entry of all new world hemorrhagic Fever arenaviruses. *J Virol.* 2012 Apr; 86(7):4024-8. Doi: 10.1128/JVI.06397-11.
- Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* 1975 Aug 7; 256(5517):495-7.

“TERAPIAS CONTRA BLANCOS MOLECULARES EN ONCOLOGÍA BENEFICIOS, RIESGOS Y ENGAÑOS”

Dr. Ernesto Gil Deza

Director de Investigación y Docencia - Instituto Oncológico Henry Moore –Director- Carrera de Oncología Clínica-Universidad del Salvador

Mail: egd@hmoore.com.ar

El panorama de la oncología se ha visto modificado por los hallazgos de la biología molecular. Este conocimiento recientemente adquirido ha impactado en todas las áreas de la oncología: tanto en la patognosia como en el diagnóstico, el pronóstico y en la terapéutica.

En el campo de los tratamientos oncológicos el descubrimiento de las vías moleculares ha identificado blancos terapéuticos susceptibles de ser modulados: esto es lo que se denomina terapia contra blancos moleculares. Aunque la primera evidencia de modulación de vías metabólicas podemos rastrearlas al tratamiento hormonal del cáncer de mama y próstata, este tipo de tratamientos adquirió relevancia con la aparición del Imatinib para el tratamiento de la Leucemia Mieloide Crónica, Filadelfia positivo y el tratamiento del sarcoma gastrointestinal (GIST).

En la misma línea está el impacto en supervivencia de las pacientes con cáncer de mama por la inhibición de la vía de Her2. En otros casos impactó menos en supervivencia pero mejoró la tolerancia, como es el caso de los tumores de riñón con el uso de inhibidores de tirosin kinasas o anti factor de crecimiento endotelio-vascular (VEGF) con respecto a los tratamientos con interferón o interleukina 2.

En muchos otros tumores los resultados han sido menos alentadores o están restringidos a subtipos moleculares infrecuentes: cómo es el caso en cáncer de pulmón a no pequeñas células del uso de inhibidores del receptor de factor epidérmico de crecimiento cuando está mutado o de los inhibidores de ALK. Así sucede también en cáncer de colon el uso de Cetuximab en tumores KRas mutado o en melanoma con BRAF mutado.

Estos resultados alentadores han generado muchas expectativas y un gran marketing con respecto a la utilidad de estos fármacos.

Sin embargo el estudio de las evidencias muestra que en muchos casos la eficacia es menor a la esperada, la toxicidad es mayor y los costos son inabordables para la mayoría de los sistemas de salud.

En la presentación se analizarán en forma crítica los logros de estas terapias, los riesgos de su empleo y su utilización con evidencias cuestionables en muchos pacientes.

“LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE: DESMIELINIZACIÓN Y REMIELINIZACIÓN”

Dra. Patricia Mathieu,

IQUIFIB, Cátedra de Química Biológica Patológica.- FFyB-UBA

Mail: pmathieu@qb.ffyb.uba.ar

La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad desmielinizante de mayor incidencia en el mundo en adultos jóvenes. Esta patología se caracteriza por la pérdida de mielina como consecuencia de un proceso inflamatorio que puede originarse o ser propagado por una respuesta autoinmune dirigida principalmente contra las proteínas de la mielina.

Las primeras etapas de la enfermedad se caracterizan en general por períodos de déficit funcional (recaídas) seguidas por períodos de recuperación (remisión), coincidentes con las etapas de desmielinización y remielinización. En este marco se define a la remielinización como el proceso mediante el cual se restauran las vainas de mielina en los axones desmielinizados, reinstaurando la conducción saltatoria y resolviendo el déficit funcional. Sin embargo, si el proceso de remielinización falla, se produce la pérdida irreversible de los axones desmielinizados con el consiguiente cuadro de neurodegeneración progresiva que caracteriza a las enfermedades desmielinizantes. La EM es una patología heterogénea y muy compleja caracterizada por diferentes patrones, que sugieren por un lado, la predominancia de una inflamación mediada por la respuesta inmune (patrones I y II) y por el otro, una oligodendrogliopatía primaria (patrones III y IV).

Actualmente, las estrategias terapéuticas están orientadas a la inmunosupresión y al bloqueo del proceso inflamatorio, siendo efectivas sólo para las formas clínicas caracterizadas por remisión/recaída (RRMS) pero no para las formas progresiva primaria (PPMS) y progresiva secundaria (SPMS) de la enfermedad. Estas terapias tienden a reducir los períodos de recaída de la EM y postergar la progresión de la sintomatología invalidante en los pacientes. Hace unos años comenzó una nueva etapa en relación a las estrategias terapéuticas de esta patología caracterizada por el desarrollo de nuevos compuestos y por el uso de anticuerpos monoclonales humanizados con el objeto de modular el proceso inflamatorio. Sin embargo los efectos adversos, algunos de ellos severos, que conllevan estos nuevos tratamientos hacen necesario evaluar en cada paciente en particular, si el beneficio de su utilización supera el riesgo del mismo.

En este contexto es importante dirigir el foco de la investigación al conocimiento de los mecanismos involucrados en el proceso de remielinización para el desarrollo de nuevos agentes regenerativos que favorezcan los mecanismos de reparación. Es importante mencionar que una serie de evidencias indirectas sugieren que los progenitores de las células oligodendrogiales (OPCs) son la mayor fuente de oligodendrocitos remielinizantes dado que existe una población residente en las áreas ricas en mielina del cerebro adulto o pueden generarse a partir de las células progenitoras neurales (NPCs) presentes en la zona subventricular (SVZ).

La identificación de los factores y condiciones que afectan la habilidad de los OPCs para madurar y poder llevar a cabo el proceso de remielinización ampliará los conocimientos sobre las patologías desmielinizantes y abrirá nuevas perspectivas terapéuticas. En este campo, nuestro proyecto está orientado al estudio de la posible participación de distintas vías de señalización, como las mediadas por el receptor Notch, por la proteína Shh y por el factor de crecimiento transformante beta, en la cascada de señales involucradas en la proliferación y diferenciación de los OPCs durante la remielinización.

DESDE LA INMUNOQUÍMICA A LA POTENCIALIDAD TERAPÉUTICA: UN MISMO MAB ANTI-IFN- α 2b DESTINADO A LA GENERACIÓN DE DOS NUEVOS BIOTERAPÉUTICOS

Dr. Marcos Oggero

Laboratorio de Cultivos Celulares

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas – Universidad Nacional del Litoral

Ciudad Universitaria – C.C. 242 – (S3000ZAA) Santa Fe – Prov. de Santa Fe – Argentina

E-mail: moggero@fcb.unl.edu.ar

El interferón- α (IFN- α) presenta actividad antiviral y antiproliferativa y, por lo tanto, está indicado para el tratamiento de ciertas infecciones virales y enfermedades tumorales. Sin embargo, el aumento de su expresión en el ser humano se asocia a numerosos desórdenes inflamatorios y enfermedades autoinmunes en los que la citoquina puede ser un factor en el inicio o en el mantenimiento de la patología. Dado que el IFN- α desde el punto de vista clínico presenta un comportamiento disociado, se busca, por un lado, incrementar su eficacia terapéutica en aquel grupo de patologías que requieren de su administración como medicamento y, por otro, bloquear sus efectos adversos en aquel conjunto de enfermedades en las que el IFN producido por el propio individuo constituye parte de su etiología.

En el citado contexto, en aquellos casos en los cuales el IFN debe ser utilizado como medicamento, resulta interesante contar con moléculas de segunda generación que evidencien un incremento de su vida media y, en consecuencia, en su actividad biológica *in vivo*. La glicosilación, mediante la expresión de proteínas recombinantes en células de mamíferos, constituye un medio eficaz para conferirles las mejoras antes mencionadas. Por otro lado, para atenuar los efectos adversos del incremento en la expresión de IFN- α en el ser humano, los anticuerpos monoclonales (mAbs) constituyen potenciales candidatos para las terapias basadas en la neutralización de la citoquina.

De este modo, nos hallamos en presencia de dos procesos diferentes: la generación de una molécula de rhIFN- α de segunda generación altamente glicosilada y la obtención de un anticuerpo recombinante anti-hIFN- α , ambos destinados a terapéutica humana. En el primer caso, se diseñaron muteínas de IFN conteniendo desde uno a cinco sitios potenciales de N-glicosilación. La heterogeneidad de las preparaciones impulsó el diseño de procedimientos que reconozcan las diferentes glicoisofomas de las muteínas con el fin de determinar su calidad cuantificarlas y purificarlas. Para cumplir tal objetivo se seleccionó, a partir de un panel de mAbs, un anticuerpo que exhibiera la particularidad de reconocimiento buscada. En el segundo caso, se desarrolló un anticuerpo recombinante de cadena única scFv tendiente a preparar un bioterapéutico con capacidad neutralizante de la actividad biológica del IFN- α endógeno y que es producido por el ser humano en determinadas patologías.

Con tales propósitos, se obtuvo un panel constituido por 11 mAbs que demostraron reconocimiento específico del IFN- α 2b humano recombinante (rhIFN- α 2b) inmovilizado en fase sólida. Todos ellos exhibieron capacidad para reconocer a la citoquina en su estado nativo, observándose un rango de afinidades que osciló entre $1,7 \cdot 10^7 \text{M}^{-1}$ y $1,4 \cdot 10^{10} \text{M}^{-1}$. La especificidad de cada mAb fue estudiada en forma relativa mediante ensayos de competición entre pares de mAbs. De esta manera, fue posible clasificar a los anticuerpos según su capacidad para reconocer 4 áreas de la citoquina.

A partir del panel mencionado, se seleccionó el mAb CA5E6 que reunió la condición de reconocimiento del conjunto de isoformas glicosiladas de las muteínas de IFN. De tal modo, se puso a punto un ensayo de ELISA de competición y un procedimiento de cromatografía de inmunoafinidad para cuantificar y purificar la totalidad de glicoisofomas de la citoquina producida por células CHO.

Asimismo, teniendo en cuenta la habilidad neutralizante de la actividad biológica *in vitro* del IFN- α 2b, la capacidad para mapear diferentes áreas moleculares de la citoquina y el valor de sus constantes de afinidad, 4 de ellos fueron seleccionados para la preparación de fragmentos recombinantes de cadena única (scFv). Posteriores evaluaciones inmunoquímicas y ensayos de neutralización de actividad biológica permitieron seleccionar al mismo mAb CA5E6 dado que no demostró una disminución significativa de la afinidad con respecto al mAb completo ($1,50 \times 10^8 \text{M}^{-1}$ y $2,20 \times 10^8 \text{M}^{-1}$, respectivamente). Asimismo, se implementó la

generación de una biblioteca de scFvs mutados mediante la técnica de “*error prone PCR*” que se analizó por la metodología de “*phage-display*” para seleccionar fragmentos derivados del scFv CA5E6 que exhibieran incremento en sus constantes de afinidad. Con esta metodología se obtuvo un panel de 11 fragmentos scFv con un número de mutaciones que varió entre 1 y 4 sustituciones aminoacídicas. El fragmento denominado EP18 mostró entonces un incremento de la mencionada constante ($3,50 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$). Adicionalmente, se estudió su capacidad neutralizante de la actividad biológica anti-viral *in vitro* del hIFN- α demostrando que ésta era superior a la correspondiente al scFv CA5E6 original.

Por otro lado, se evaluó la actividad neutralizante *in vivo* de la actividad antitumoral por parte del mAb CA5E6 parental utilizando células PC-3 tumorales humanas implantadas en ratones *nude* atímicos. En este ensayo se observó que los grupos de ratones correspondientes a los tratamientos con rhIFN- $\alpha 2b$ y, con esta citoquina en presencia del mAb CA5E6, exhibieron una diferencia significativa ($p = 0,011$) entre los pesos promedios de los tumores correspondientes a los dos tratamientos (0,39 g y 0,92 g, respectivamente). Asimismo, no se observó diferencia significativa ($p = 0,3$) entre el grupo control (sin rhIFN- $\alpha 2b$) y el grupo de animales tratados con el mAb CA5E6, confirmando el bloqueo de la actividad biológica del IFN.

En síntesis, es posible concluir que el mAb CA5E6 constituye una molécula útil que reúne, en sí misma, la potencialidad para generar dos diferentes bioterapéuticos de interés en salud humana.

“EJERCICIO DE COMPARABILIDAD EN ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS”

Dr. Leonardo G. Alonso.

Fundación Instituto Leloir

mail: leonardoe7@gmail.com

Los anticuerpos monoclonales terapéuticos constituyen en la actualidad el grupo de biofármacos con la mayor tasa de crecimiento, tanto en volumen de facturación del mercado como en el número de nuevas moléculas evaluadas en ensayos clínicos. Productos como Rituximab, Adalimumab, Bevacizumab o Etanercept, han demostrado una excelente performance clínica basados en su eficacia y perfil de seguridad. Sin embargo, el coste de estos tratamientos se estima en varios miles de dólares anuales por paciente y constituyen un importante egreso en los sistemas de salud público.

Muchos de estos productos han perdido o está próximo a vencer la fecha de validez de las patentes que protegen su uso y con ello se ha abierto la posibilidad de registrar versiones biosimilares de los productos originales. En este contexto, desde el 2011 en la Argentina (Disposición 7729 ANMAT) y desde el 2005 en la comunidad económica europea se ha establecido una vía de registro particular para un producto medicinal, denominado biosimilar, que se basa en la comparación con una especialidad medicinal de referencia (el producto original) con comercialización efectiva y aprobado por la autoridad regulatoria pertinente.

Esta vía de registro pretende por un lado establecer los criterios que fundamenten la calidad (seguridad y eficacia comparables con el producto original) del producto biosimilar y por otro, disminuir el número y la extensión de los ensayos clínicos requeridos para su aprobación con la consiguiente disminución del costo de desarrollo y tiempo de entrada al mercado.

La vía de registro por biosimilaridad difiere sustancial y conceptualmente de aquella referida al registro de productos genéricos ya que la complejidad y naturaleza de los biosimilares (en general proteínas complejas), imposibilita afirmar la existencia de **idénticos principios activos** tal cual requiere la aprobación de productos genéricos.

Así, la comparación entre el producto original, en este caso un anticuerpo monoclonal, y aquel biosimilar implica el desarrollo de un **ejercicio de comparabilidad** tal como lo requieren las disposiciones de EMEA, ANMAT y FDA. El ejercicio de comparabilidad es un desarrollo formal y experimental donde se determinan y comparan los **atributos de calidad críticos** de los productos y se establecen los rangos de variación y aceptación de los mismos. Por ejemplo, se establecen los rangos de variación de las isoformas glicosiladas G0, G1 y G2 con su contenido de fucosa, así como todos los atributos de calidad que impacten en el perfil de seguridad-efectividad clínica del producto y por lo tanto sean considerados críticos.

“EMPLEO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES EN TÉCNICAS DE INMUNOPROTEÓMICA PARA EL MAPEO DE EPITOPES EN ALÉRGENOS”

Dra. Ángela M. Candreva

CIDCA-IIFP. Fac. de Cs. Exactas, UNLP

Calle 47 y 116 LP (1900). Bs. As., Argentina

Por su alta exposición en la población, la leche bovina (LV) y la soja se han convertido en importantes alérgenos alimentarios. Las fórmulas a base de proteínas de soja (PS) se utilizan con frecuencia como sustitutos de LV en pacientes alérgicos (ALV) con edades superiores a los 6 meses. Sin embargo, existe una intolerancia clínica en pacientes sensibilizados únicamente a LV que puede explicarse por reactividad cruzada (RC) entre los sistemas proteicos.

Mediante el uso de un anticuerpo monoclonal específico a α -caseína bovina (mAb-1D5), obtenido en nuestro laboratorio, hemos realizado distintos estudios inmunoquímicos con alérgenos de la LV y de la soja. Con el fin de identificar los epitopes reconocidos por este mAb, las caseínas bovinas (CB) puras y el alérgeno de soja Gly m 5.0101 recombinante puro, se digirieron enzimáticamente (Tripsina-GluC). Los péptidos obtenidos fueron separados por RP-HPLC y luego analizados por dot blot utilizando el mAb-1D5. Los péptidos reactivos se caracterizaron por MALDI-TOF MS. En paralelo, el mAb-1D5 fue inmovilizado en partículas magnéticas y posteriormente se incubó con la mezcla en solución de los péptidos obtenida por proteólisis. Se compararon por MALDI-TOF los perfiles correspondientes a los péptidos unidos por el mAb-1D5, con respecto a los no reconocidos. Se identificaron con el mAb-1D5: 2 péptidos de α S1-caseína y 2 péptidos de K-caseína y 2 péptidos de Gly m 5.0101.

En conclusión, utilizando el mAb-1D5 se lograron identificar epitopes de caseínas que muestran RC con alérgenos de soja. Ellos podrían constituir posibles blancos a modificaren caseínas bovinas para reducir su alergenidad y la RC con alérgenos de la soja. Asimismo, la metodología aplicada significa un importante avance en la caracterización molecular de la reactividad cruzada entre alérgenos de soja y leche bovina, y podría ser aplicada a la predicción de nuevas reactividades cruzadas.

"DESARROLLO DE ACMO COMO HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIARREAS ASOCIADAS A CLOSTRIDIUM DIFFICILE"

Trejo FM^{1, 2}; Serradell MA,²³ Pérez PF^{1,2}.

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. 47 y 116- 1900- La Plata- Argentina-Tel/fax: 54 221 4249287. ²CONICET. ³Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata.

E-mail: ftrejo@cidca.org.ar

Clostridium difficile es un bacilo esporulado Gram positivo, patógeno nosocomial responsable del 35-50 % de las diarreas en pacientes tratados con antibióticos y con menor incidencia en pacientes inmunocomprometidos. Entre sus principales factores de virulencia destacan dos toxinas: toxina A (TcdA) y toxina B (TcdB) denominadas enterotoxina y citotoxina respectivamente. Las infecciones causadas por este patógeno conducen a cuadros que van desde diarrea leve y colitis hasta casos de megacolon tóxico y colitis pseudomembranosa fulminante (CPM). Estas complicaciones en el curso de la infección requieren de un rápido y confiable identificación de *C difficile* como agente etiológico. Los métodos de diagnóstico utilizados están basados en técnicas inmunológicas (ELISA o inmunocromatográfico, que requieren ser importados) o moleculares (PCR, qPCR, lo cual implica contar de equipamiento específico). Estas alternativas no siempre están disponibles en los centros de salud público en nuestro país. El objetivo de este trabajo consiste en desarrollar anticuerpos monoclonales (AcMo) para poder ser utilizados en el diagnóstico de diarreas asociadas a *C difficile*. Para ello las toxinas fueron aisladas a partir de cultivo la cepa VPI 10463 de *C difficile* crecido en caldo BHI y posteriormente purificadas por ultrafiltración y cromatografía de intercambio iónico. La obtención de hibridomas se realizó mediante técnica de Galfré y Milstein, empleando ratones BALB/c de 4 a 6 semanas inmunizados contra TcdA inactiva en presencia de adyuvante. Células provenientes de bazo de ratones inmunizados fueron fusionadas con células NSO (línea de mieloma originada en ratones BALB/c) en medio de crecimiento selectivo HAT. Como resultado de esto, se obtuvieron 4 hibridomas (4A11, 1E10, 4E7 y 4F6) cuyos sobrenadantes mostraron inmunoreactividad frente a TcdA purificada y de estos, solo los sobrenadantes provenientes de 4E7 fueron reactivos para TcdA presente en filtrados fecales provenientes de pacientes infectados con *C difficile*. Los sobrenadantes de 4E7 presentan un patrón de reactividad al obtenido cuando se emplean AcMo comercial contra TcdA, tanto frente a filtrados fecales de pacientes no infectados como infectados por *C difficile*. Estos resultados permiten pensar en la inclusión de los AcMo obtenidos como parte de un sistema de detección durante el diagnóstico de infecciones asociadas a *C difficile*.

“ANTICUERPOS ANTI-FLAGELINA DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM. APLICACIÓN EN LA SEROTIPIFICACIÓN DE *SALMONELLA*”

Yanina Hiriart, Sofía Sampaolesi, Araci Martínez, Dolores González Maciel, Lucía Yim, María Serradell, Martín Rumbo.

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos. 47 y 116- 1900- La Plata- Argentina-Tel/fax: 54 221 4249287. ²CONICET. ³Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata

La salmonellosis constituye una importante causa de enteritis infecciosa en todo el mundo, en particular aquellas asociadas al consumo de alimentos contaminados.

Tradicionalmente, *Salmonella* ha sido clasificada en serovariedades sobre la base de sus antígenos superficiales O (LPS) y H (flagelina). En este trabajo, hemos generado y caracterizado un panel de anticuerpos monoclonales (AcMo) anti-flagelina con el fin de detectar el antígeno H.

Se obtuvieron cuatro AcMo mediante hibridización somática de esplenocitos de ratones BALB/c inmunizados por vía intraperitoneal con flagelina de *S. enterica* serovar. Typhimurium. Dos de los AcMo (2B3H10 y 4C1H7) reconocen regiones de la molécula de flagelina conservadas entre diferentes serovariedades, mientras que los otros dos (5B4H2 y 2D11A1) están dirigidos contra estructuras restringidas a *S. enterica* serovar. Typhimurium, siendo el AcMo 5B4H2 adecuado para el desarrollo de pruebas de aglutinación directa. Empleando un panel de diversas serovariedades de *S. enterica* portando diferentes variedades de antígeno H, confirmamos que 5B4H2 aglutina específicamente *S. Typhimurium* (fórmula antigénica 4,12: i: 1,2) u otras serovariedades que expresan el factor flagelar i.

En conclusión, se obtuvo una herramienta muy útil para la serotipificación de cepas epidemiológicamente relevantes, mediante técnicas inmunoquímicas simples. Asimismo, la capacidad de caracterizar cepas específicas y de determinar las fuentes primarias de contaminación con *Salmonella*, genera información valiosa para el estudio de la epidemiología de este microorganismo.

“Anticuerpos monoclonales: Herramientas actuales y futuras para el diagnóstico serológico en Camélidos Sudamericanos”

Presenta: Bioq. Adrián Friedrich

Martín Ledesma, Adrián Friedrich, Ignacio Landone, Alejandro Ferrari, Juliana Leoni.

Lab. de Inmunología Básica y Aplicada IDEHU (CONICET-UBA)

Resumen:

La cría de Camélidos Sudamericanos (CS) se ha vuelto una práctica habitual en nuestro país en los últimos años. De ahí que el relevamiento sanitario sea una tarea de fundamental importancia para evitar tanto enfermedades zoonóticas como pérdidas económicas relacionadas a la muerte temprana de cabezas de ganado.

Por otro lado, los CS poseen ciertos subisotipos de IgG -denominados anticuerpos de cadena pesada (de ahora en más HCAs del inglés *Heavy Chain Antibodies*)- que están desprovistas de cadenas livianas a su vez que no contienen el dominio CH1 en sus cadenas pesadas. La función biológica de estos isotipos no convencionales está pobremente descrito. El pool de inmunoglobulinas séricas de CS consiste en 13% IgM, 65% IgG convencional (IgG1, 150 kDa) y 22% HCAs (IgG2 and IgG3, 90 and 80 kDa, respectivamente).

Por lo antedicho, nuestro grupo se ha propuesto la producción de anticuerpos monoclonales (AcMo) específicos para los distintos subisotipos de IgG de CS (IgG1, IgG2 e IgG3) -aún en desarrollo- a su vez que anti IgM -ya desarrollado-. Estas herramientas serán de gran utilidad en la caracterización de la respuesta inmune frente a enfermedades infecciosas y prevalentes en CS, para dilucidar qué rol cumplen HCAs frente a distintos agentes infecciosos.

En este sentido, se han reportado una gran cantidad de casos de muerte de CS por fallas en la transferencia pasiva de la madre a la cría, evidenciándose como niveles disminuidos de inmunoglobulinas (Ig) séricas en el recién nacido. Nuestro grupo ha producido un AcMo específico para IgM de CS capaz de producir fenómenos de interacción secundaria y lo hemos utilizado en el desarrollo de una técnica de Inmunodifusión Radial (IDR) que permite la correcta cuantificación de inmunoglobulinas séricas en estos animales. La utilización de anticuerpos anti IgG total, dada las particularidades ya mencionadas de estos isotipos la convierten en una mala opción para su uso en placas de IDR, ya que generaría múltiples halos de precipitación de difícil análisis. Es por esto que hemos decidido cuantificar IgM, como indicador de niveles de anticuerpos en sueros de llamas y guanacos mediante una técnica ideal para su utilización en diagnóstico de campo. Se han realizado, a su vez, ensayos preliminares de validación de dicho método y se lo ha comparado con un ELISA de cuantificación (también utilizando el AcMo mencionado) para analizar la coherencia en los valores obtenidos. Los resultados muestran variabilidades intra e inter ensayos aceptables, estabilidad durante las 4 semanas y buena correlación con el ensayo de ELISA, sugiriendo una potencial aplicación en el diagnóstico de CS.

Anticuerpos monoclonales: Aplicaciones del MAb anti-CD44 clon IM7

Bioq. Silvina Lompardía

Lompardía Silvina L, Mascaró Marilina, Díaz Mariángeles, Pibuel Matías.

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

Los anticuerpos son moléculas con un enorme potencial analítico debido a su exquisita especificidad. Con el advenimiento de la tecnología de anticuerpos monoclonales (MAbs) se han producido importantes avances en las áreas médicas y biotecnológicas. Si bien el desarrollo inicial de Köhler y Milstein¹ permitió la producción de MAbs de ratón hoy es posible obtenerlos a partir de otras especies como rata y humano. Un ejemplo de ello es el MAb anti-CD44 clon IM7 cuyo isotipo es IgG_{2b} κ de rata. Dicho anticuerpo reconoce el CD44 de ratón y de humano pero presenta reacción cruzada con diversas especies, entre ellas, gato, perro, caballo y mono. Reconoce las isoformas estándar y variantes de CD44 humano y de ratón. En nuestro laboratorio trabajamos con el clon IM7 y a partir del sobrenadante de cultivo purificamos el MAb anti-CD44. Lo utilizamos como herramienta para identificar células CD44 positivas y para bloquear dicho receptor con el fin de evaluar su implicancia en diversos procesos biológicos. En las líneas celulares de linfoma T murino, LBR-V y LBR-D, fue de importancia para determinar la participación de CD44 en la activación de bombas de eflujo de drogas² y en la migración celular mediada por ácido hialurónico³. En las líneas celulares humanas de leucemia mieloide crónica, K562 y Kv562, dicho anticuerpo nos permitió evaluar la expresión en superficie del receptor mediante citometría de flujo, western blot e inmunofluorescencia. Además, mediante el bloqueo de CD44 con el Mab IM7 pudimos evaluar la implicancia de la interacción CD44-ácido hialurónico sobre la proliferación celular y la activación de vías de señalización. También pudimos observar la participación de CD44 en la resistencia a multidroga de las células Kv562⁴. Las diferentes aplicaciones mencionadas ponen de manifiesto la gran versatilidad práctica de los anticuerpos monoclonales demostrando su importancia en las ciencias bioquímicas.

Referencias:

1. Köhler G. y C. Milstein (1975): Continuous culture of fused cells secreting antibodies of predefined specificity. *Nature* 256:495.
2. Cordo Russo RI, García MG, Alaniz L, Blanco G, Alvarez E and Hajos SE (2008): Hyaluronan oligosaccharides sensitize lymphoma resistant cell lines to vincristine by modulating P-glycoprotein activity and PI3K/Akt pathway. *International Journal of Cancer* 122: 1012-1018.
3. Cordo-Russo RI, Alaniz LD, Saccodossi N, Lompardía SL, Blanco G, Álvarez É, García MG, Hajos SE (2010): Hyaluronan induces migration of multidrug-resistant lymphoma cell lines in vitro through Tiam1 activation by a PI3K-dependent mechanism. *Leukemia Research* 34: 1525–1532.
4. Lompardía SL, Papademetrio DL, Mascaró M, Alvarez E, Hajos SE (2013): Human leukemic cell lines synthesize hyaluronan to avoid senescence and resist chemotherapy. *Glycobiology* 23 (12):1463-1476.

Estudio de eficacia y seguridad de uso de Basiliximab en pacientes pediátricos trasplantados hepáticos

Natalia Riva¹, Paulo Cáceres Guido^{1,2}, Marcela Rousseau², Marcelo Dip³, Esteban Halac³, Oscar Inventarza³, Gabriel Mato², Paula Schaiquevich^{1,4}

¹ Unidad de Farmacocinética Clínica, Área de Farmacia, ² Área de Farmacia, ³ Servicio de Trasplante Hepático, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, ⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Introducción: El basiliximab es un anticuerpo monoclonal humanizado utilizado en la terapia de inducción en el trasplante de órgano sólido. Es un antagonista del receptor de IL2 lo cual impide la unión de IL2 y por ende, se previene la activación de linfocitos T mediada por IL2 y así la respuesta del sistema inmune. Está indicado en la profilaxis del rechazo de trasplante hepático en adultos, sin embargo en pediatría su indicación es *off-label* y con amplia utilización en la inducción en el trasplante hepático. Específicamente en trasplante, el rechazo celular agudo del injerto es un evento multifactorial que debe evitarse ya que determina la sobrevida del injerto y del paciente.

Objetivos: Evaluar la seguridad y la eficacia al uso de basiliximab. La eficacia se evaluó según la incidencia de episodios de rechazo celular agudo

Materiales y métodos: Se incluyó en el presente trabajo la población pediátrica trasplantada hepática entre los años 2010 y 2012 en el Hospital de Pediatría JP Garrahan, Buenos Aires, Argentina. Se excluyeron aquellos pacientes que tuvieran como diagnóstico el re-trasplante y aquellos pacientes con sobrevida menor a 6 meses post-trasplante. Se diseñó un estudio multidisciplinario descriptivo, cuali-cuantitativo, retrospectivo y prospectivo longitudinal. El seguimiento de los pacientes se realizó por un mínimo de 2 años, a través de la lectura retrospectiva de historias clínicas y por el reporte de complicaciones discutidas en los ateneos semanales del servicio de Trasplante Hepático previa aprobación del protocolo por Docencia e Investigación del Hospital (Protocolo de investigación Nro 764).

Resultados: Se analizaron un total de 88 pacientes trasplantados hepáticos en el periodo 2010-2012. Un total de 7 pacientes no pudieron ser evaluados a lo largo de dos años por diferentes motivos: mayoría de edad, suspensión y rotación del tratamiento por reacciones adversas a medicamentos o bien, mudanza del paciente. Un total de 48 pacientes recibieron inducción con basiliximab, de los cuales 17 de ellos (35%) no presentaron ningún episodio de rechazo durante 2 años de seguimiento post-trasplante y los 31 restantes (65%) presentaron al menos un rechazo en el periodo de estudio. Temporalmente, un 68% (21/31) de los pacientes presentaron el rechazo celular agudo (RCA) en los primeros 6 meses post trasplante. La distribución de los rechazos por severidad comprendió 41% (13/32 episodios de rechazo) leves, 41% (13/32) moderados, 12.5% (4/32) severos y 6.25% (2/32) corticoreistentes. Un total de 80.6% (25/31) pacientes que recibieron inducción y presentaron RCA, lo hicieron en el primer año post trasplante.

Por otra parte, se analizaron 29 pacientes trasplantados hepáticos que no recibieron basiliximab como inductor en la terapia inmunosupresora pre-trasplante. Un total de 12/29 (41.4%) pacientes no presentó episodios de rechazo celular agudo, mientras que 17/29 (58.6%) sí lo hicieron. De los pacientes que presentaron RCA, 88.2% (15/17) lo hicieron en los primeros 6 meses post trasplante. Los rechazos celulares agudos se distribuyeron de la siguiente manera: el 64.7% fue leve, el 29.4% moderado y el 5.9% severo. Al primer año post trasplante, todos los pacientes ya habían experimentado al menos un episodio de RCA.

Conclusiones: Este es el primer proyecto en América Latina que propone y desarrolla un programa de vigilancia intensiva de inmunosupresores en trasplante pediátrico hepático.

Es importante continuar con el estudio a mediano y largo plazo ya que los resultados podrán contribuir a mostrar perfiles de seguridad y eficacia que no han sido descriptos hasta el momento.

Farmacoepidemiología del Rituximab en un hospital pediátrico de alta complejidad

Marcela Rousseau, **Gabriel Molina**.

Comité de Farmacovigilancia, servicio de Farmacia, Hospital Garrahan.

Siguiendo las tendencias internacionales, en nuestro hospital, se está produciendo un aumento de tratamientos con drogas de origen biológico, donde además es escasa o nula su evidencia científica y muy poco conocido su perfil de seguridad y eficacia. Dado lo extraordinario de las patologías aquí tratadas con limitadísima farmacoterapia disponible o ante el fracaso de los tratamientos convencionales que involucran altos costos, es cada vez más frecuente su uso en el hospital.

Se propone realizar este estudio farmacoepidemiológico, sobre uno de estos medicamentos, RITUXIMAB, debido a que es el décimo medicamento que más impacta en el presupuesto del Hospital y a que posee un bajo nivel de evidencia de efectividad en pediatría, además de observarse un aumento sostenido en el número de las indicaciones para las cuales se indica.

Objetivo principal:

Estudiar las reacciones adversas, y el perfil farmacoepidemiológico del Rituximab, un medicamento de alta incidencia en el presupuesto en el hospital y con bajo nivel de evidencia de efectividad en pediatría.

Materiales y métodos

Se trató de un estudio de utilización de medicamentos del tipo Prescripción - Indicación, estudio observacional retrospectivo y prospectivo para los nuevos tratamientos.

El presente estudio se dirigió a pacientes pediátricos del Hospital de Pediatría JP Garrahan que recibieron RITUXIMAB durante el periodo enero 2012 – junio 2013 (análisis retrospectivo) y enero 2014 – junio 2014 (análisis prospectivo).

Para analizar los resultados del tratamiento, se consideró resultado positivo si hubo logros del tratamiento, según parámetros expresados en la historia clínica que evidenciaran cambios positivos en la condición inicial del paciente, negativos cuando no modificaron esa condición o incluso la condición del paciente empeoró luego del tratamiento, e incierto cuando se necesitaron dosis adicionales de mantenimiento o terapéutica adicional, para evitar la progresión de la enfermedad o cuando el paciente no continuó con los controles correspondientes en esta institución.

Criterios de inclusión: pacientes que recibieron los medicamentos mencionados y se encontraron registrados en el sistema informático del hospital.

Criterios de exclusión: pacientes cuya historia clínica no tenían registros relacionados a los medicamentos de estudio

Para el estudio de las reacciones adversas a la medicación en cuestión, la unidad de análisis fue cada reporte de RAM, se completaron las fichas amarillas de todas las RAM halladas, luego estas fichas fueron validadas y enviadas a ANMAT. Las RAM fueron clasificadas según las normas del Comité de Farmacovigilancia del Hospital Garrahan.

Resultados

Las patologías para las cuales se utilizó el rituximab fueron 15: anemia hemolítica autoinmune, enfermedad de Devic (neuromielitis óptica), Lupus Eritematoso Sistémico (LES), Purpura trombocitopenica (PTI), Linfoma de Burkitt, Síndrome de ALPS, desensibilización en trasplante renal y hepático, Reactivación de Virus de Epstein Barr (EBV), Síndrome Opsoclonus-mioclonus, Encefalitis autoinmune, Bicitopenia autoinmune, Esclerosis sistémica juvenil, Vasculitis autoinmune, Síndrome EVANS y Linfoma células B

Se analizaron 58 pacientes (48 de forma retrospectiva y 10 de forma prospectiva), de los cuales 32 (55%) presentaron un resultado positivo luego del tratamiento con esta droga, distinguiéndose un porcentaje mayor para Linfoma de Burkitt (100 % resultado positivo, n = 4) y disminución de la carga viral para Epstein Barr (83,3% de resultado positivo, n= 18), en menor medida (54.5%, n= 11) para opsoclonus mioclonus y ningún resultado positivo en el caso del tratamiento del rechazo en trasplante hepático y renal.

16 pacientes (27%) presentaron un resultado negativo y 10 (14%) tuvieron un resultado variable, ya que respondieron parcialmente y necesitaron continuar su tratamiento, por otro lado 2 pacientes no volvieron a asistir al hospital.

En cuanto a las Reacciones Adversas a Medicamentos (RAM) se notificaron 41, correspondientes a 22 de los pacientes analizados. La gran mayoría de estas RAM fueron relacionadas a la infusión de la droga.

Conclusiones

- El perfil de seguridad del rituximab lo ubica como un medicamento riesgoso, por la alta incidencia de RAM esperables.
- Se notó una gran dispersión en la forma de premedicar a los pacientes.
- Dada la gran dispersión observada en las indicaciones y la forma de premedicar a los pacientes, el comité de Farmacovigilancia realizará un documento llamado Guía para la prescripción y seguimiento de Rituximab, con el método de consenso RAND-UCLA.

ANEXO V

La Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica tiene el agrado de invitar a usted a la sesión pública de incorporación como Académico Titular del **Dr. Alberto Angel Gurni** que celebrará el jueves 13 de noviembre a las 18:00 hs., en la Sala de conferencias “Pbro. Antonio Sáenz” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UBA, Junín 956 PP C.A.B.A

Saludamos a usted con nuestra más distinguida consideración.

Acad. Gabriel Mato
Secretario General

Acad. Manuel Limeres
Presidente

PROGRAMA

Palabras de apertura a cargo del Sr. Presidente de la Academia Acad. Dr. Manuel R. Limeres.

Presentación del Dr. Alberto Gurni a cargo del Académico Titular Miguel D’Aquino.

Discurso de incorporación del Señor Académico Alberto Gurni quien disertará sobre el tema:

“La forma de las plantas”.

Entrega de medalla y diploma al Académico Titular Alberto Gurni por el Sr. Manuel Limeres

La Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica tiene el agrado de invitar a usted a la sesión pública de incorporación como Académico Titular del **Dr. Roberto Coco** que celebrará el jueves 11 de diciembre a las 18:00 hs., en la Sala de conferencias “Pbro. Antonio Sáenz” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UBA, Junín 956 PP C.A.B.A

Saludamos a usted con nuestra más distinguida consideración.

Acad. Gabriel Mato
Secretario General

Acad. Manuel Limeres
Presidente

PROGRAMA

Palabras de apertura a cargo del Sr. Presidente de la Academia Acad. Dr. Manuel R. Limeres.

Presentación del Dr. Roberto Coco a cargo del Académico Titular Marco Pizzolato.

Discurso de incorporación del Señor Académico Roberto Coco quien disertará sobre el tema:

“La genética reproductiva: mi visión”.

Entrega de medalla y diploma al Académico Titular Roberto Coco por el Sr. Manuel Limeres

LAS FORMAS DE LAS PLANTAS

Prof. Dr. Alberto Ángel Gurni

Desde su aparición sobre el planeta, las plantas ocuparon casi todas las regiones. Son muy pocos los lugares de la Tierra que no hayan colonizado. Así, tomaron distintos hábitos: desde árboles frondosos, lianas, arbustos hasta plantas herbáceas a veces diminutas. Sobre esta base surge una de las clasificaciones más antiguas debida a Teofrasto. De acuerdo con los ambientes en que se desarrollan, aparece una gran diversidad de formas consecuencia de las adaptaciones que sufren para sobrevivir: plantas que buscan la luz, plantas crasas, plantas parásitas, plantas acuáticas, plantas que atrapan presas son algunos ejemplos de este fenómeno. Las hojas son los órganos que más se diversificaron. Incluso las flores son un conjunto de hojas modificadas. Su variabilidad y versatilidad es muy grande. Los sistemas de clasificación más modernos se basaron en los caracteres florales, pues demostraron mayor estabilidad en relación con los caracteres vegetativos.

Hasta aquí, no se necesita más que el sentido de la vista para percibir este juego de formas. Sin embargo, las plantas poseen otras, ocultas al ojo del observador y que, para poder ponerlas de manifiesto, se necesita recurrir al empleo de instrumentos ópticos. Así, aparece un nuevo universo de formas relacionado con los tejidos que las componen. Algunos de ellos, como por ejemplo el tejido epidérmico, pueden ser muy versátiles en cuanto a su estructura. Muchas veces las células de algunos de esos tejidos pueden contener compuestos químicos visibles al microscopio, tales como granos de almidón y cristales, que contribuyen de esta manera a la diversificación microscópica.

Pero las plantas reservan aún otro nivel de formas. Son las formas invisibles. Se las puede definir como aquellas que ya no se pueden percibir por medio de la vista, sino que es necesario recurrir a instrumentos complejos que proporcionan los datos que permiten conocerlas. Glicósidos cianogenéticos y cardiotónicos, flavonoides, terpenoides, alcaloides, lignanos, cumarinas, quinonas y muchos otros compuestos químicos, desde muy simples a muy complejos, productos del metabolismo celular, componen la gran diversidad molecular vegetal.

Como se desprende de lo expuesto, las plantas presentan infinidad de formas a diferentes niveles: macroscópico, microscópico y molecular.

MI MISIÓN Y VISIÓN SOBRE GENÉTICA Y REPRODUCCIÓN

Dr. Roberto Coco

Me siento muy honrado por la presente distinción. Agradezco enormemente al claustro de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica y muy especialmente al Acad Marco Pizzolato por su apreciación y confianza hacia mi persona, a mis familiares, compañeros de trabajo, amigos y colegas acá presentes y los que no pudieron asistir a este acto. También quiero agradecer muy especialmente a la Universidad pública que permitió que arribara hasta acá y a los doctores Martín Cullen y César Bergadá que posibilitaran realizar mi tesis doctoral sobre Aberraciones Cromosómicas y Anomalías Cromosómicas.

Debo mi interés por el Análisis Clínico al Prof. Margni, quien en mi ciudad natal permitió que observara al microscopio un frotis de mi propia sangre, cuando estaba padeciendo una estreptococcia. Creo que no tenía más de 8 o 9 años. Ver con detalles lo que no podía ver a simple vista, fue realmente fascinante!. Otro profesor al que estoy eternamente agradecido fue el Dr. Jamardo, quién supo escucharme y aconsejarme cuando no podía entender la complejidad del ácido desoxirribonucleico cuando cursaba la materia biología. Ironías de la vida, al poco tiempo de ingresar como estudiante en la facultad de bioquímica, aparece un anuncio en el diario, en el que se solicitaba técnico de laboratorio, preferentemente estudiante de carreras afines, para el departamento de Medicina Radiosanitaria de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CONEA). Me presenté y apliqué para el cargo de técnico de laboratorio. El trabajo que debía realizar era una marcha química que permitía determinar la cantidad de Estroncio 90 que tenía los organismos vivos. Rapidamente me dí cuenta que ese tipo de trabajo no me producía ninguna satisfacción, para ser franco, era bastante aburrido y se lo transmití al Dr. Dan Bensinson, director del departamento. Le comenté que prefería algo más relacionado con la observación al microscopio. Me propuso preparar un seminario sobre el efecto de las radiaciones sobre los cromosomas humanos de linfocitos de sangre periférica y de acuerdo a como me fuera con el mismo, me daría la oportunidad de trabajar sobre aberraciones cromosómicas inducidas por rayos X. Pero lo que más me atraía era la citogenética clínica. Siempre leía sobre los nuevos síndromes citogenéticos. Mi interés era trabajar en el Hospital de Niños de Buenos Aires, y ni bien me gradué lo logré. El background adquirido en la CONEA fue muy importante para aplicar al cargo de aspirante a citogenetista en un hospital de referencia como el Niños. Tuve a dos señores maestros, el Dr. Cesar Bergadá y al Dr. Martín Cullen, que me dejaron que me formara en esa nueva disciplina. No puedo dejar de agradecer a la Fundación de Endocrinología Infantil, que me otorgó la primera beca hasta que conseguí entrar a carrera de personal de apoyo de la investigación en el CONICET. Luego de 10 años de trabajo en el Niños, defendí mi tesis doctoral sobre Anomalías Cromosómicas y Malformaciones Congénitas múltiples, obteniendo el premio a la mejor tesis del año. Por esa época, era común que los obstetras ante el nacimiento de un niño con malformaciones, dijeran a los padres " no se preocupen esto no se va a volver a repetir". Si bien es verdad que la mayoría de las anomalías cromosómicas numéricas son de novo, la mayor parte de las anomalías estructurales desbalanceadas son transmitidas por padres portadores de rearrreglos cromosómicos balanceados, con riesgo aumentado de recurrencia para la descendencia. En el bienio 80-82 nuestro equipo logró el premio Wilfrid Baron al mejor trabajo sobre genética humana. En el año 78 nació la primer bebé de probeta. Este hecho convulsionó a la sociedad entera y por supuesto a la reproducción humana. La misma fue fruto de las investigaciones del biólogo Robert Edwards y el gineco-obstetra Steptoe quienes dedicaron muchos años al cultivo de los ovocitos preovulatorios en el laboratorio. Debo de reconocer que muchos años antes Edwards publicó la maduración del ovocito in vitro en medios de cultivo simples hasta el estadio de metafase II. Hermosa imagen la del ovocito madurado in vitro con sus cromosomas en el estadio de metafase II!. Inmediatamente consideré qué buena oportunidad para analizarlos antes de ser fecundados. En el año 1984, en nuestro medio El Dr. Nicholson entusiasmó al Dr. Neuspiller para que se ocupara de la organización de tal innovador procedimiento y él en persona me invitó a formar parte del primer laboratorio terapéutico de fecundación in vitro. A mi me gustaba llamarlo así, aunque mundialmente la mayoría lo denomina laboratorio de Embriología Clínica. Confieso que lo que más me motivó a integrarme a ese primer equipo fue la posibilidad del estudio genético de las gametas y los huevos fecundados clivados antes de su transferencia. Comenzamos con el programa en el año 85 en la

Clínica el Sol Arenales y ese mismo año logramos el primer embarazo evolutivo por fecundación in vitro en Argentina. La finalidad de la fecundación in vitro sin dudas es terapéutica, pero cuando no se logra hay que encontrar la explicación para la falta de fecundación. El procesamiento de los ovocitos inseminados no fecundados, nos permitió conocer la constitución cromosómica de los mismos. Con dicho procesamiento aprendimos que un porcentaje importante tenían anomalías numéricas de los cromosomas o aneuploidías. Esta línea de investigación nos permitió obtener el premio Qualitas al mejor trabajo de investigación sobre genética humana. Al principio se consideró que la alta tasa de anomalías cromosómicas se debía a que eran ovocitos infecundos. Para saber si la infecundidad era debida a la alta tasa de aneuploidía ovocitaria, realizamos otra investigación aprovechando a los ovocitos mal fecundados. Procesamos citogenéticamente a los ovocitos con un número anormal de pronúcleos, o sea diferente de dos: monopronucleado o multipronucleados. Realizamos el análisis cromosómico de los pronúcleos simples y fusionados. Sorpresivamente la tasa de anomalías de las gametas fecundas fue del 48% o sea similar a lo hallado en los ovocitos infecundos. Este alto riesgo cromosómico en la fecundación es la principal razón del interés del *screening* de las aneuploidias embrionarias con el propósito del establecimiento de un embarazo evolutivo. También nos interesó el estudio cromosómico de los espermatozoides. Primeramente intentamos montar la técnica de Rudack que consistía en inseminar ovocitos de hamster desnudos de su membrana pelúcida con espermatozoides humanos y una vez formados los pronucleos se sacrificaban los ovocitos y se procesaban con la técnica de Tarkowski. Como los cromosomas humanos difieren de los del hamster, era factible el análisis cromosómico de los espermatozoides humanos. Esta técnica ya está en desuso debido a que el número de metafases logradas para el análisis eran pocas y porque fue reemplazada rápidamente por la técnica del FISH, que permitía el análisis de un mayor número de espermatozoides. Con esta técnica se puede enumerar a los cromosomas de los espermatozoides, directamente descondensando a los mismos e hibridando con sondas de los cromosomas que se pretendía enumerar. Como la tasa de aneuploidía de cada cromosoma es bastante similar, con el estudio de unos pocos cromosomas uno puede estimar la tasa de aneuploidía de todo el complemento. Con este tipo de metodología documentamos que la tasa de aneuploidía en donantes, que tienen semen normal, rara vez supera el 10%. En cambio, los varones con oligoastenoteratozoospermia severa tienen una alta tasa de aneuploidías. Vale la pena recalcar que siempre el ovocito tiene la edad de la mujer y a medida que aumenta la edad, también aumenta las posibilidades de ser aneuploide, en cambio los espermatozoides siempre tienen 75 días, tiempo en que se completa la espermatogénesis, más el tiempo de abstinencia eyaculatoria.

El desarrollo de los ovocitos fecundados in vitro durante cinco días entusiasmó a los genetistas para el desarrollo del diagnóstico genético preimplantatorio que permitiera el establecimiento de un embarazo libre de afección en parejas con mayor riesgo para una determinada patología, fuera de origen cromosómico o génico. El nacimiento de un bebé, siempre será milagroso. A mi juicio, uno puede minimizar los riesgos, pero nunca aseverar que nacerá normal y sano.

El material mayormente usado para el estudio genético fue una o dos blastómeras en ovocitos fecundados clivados de día 3, aunque cuando el riesgo radica en la mujer, se pueden estudiar a los cuerpos polares y de acuerdo a los resultados, inferir la constitución del óvulo. Nuestro grupo no acuerda en realizar la biopsia en cuerpo polar I por su alta incerteza diagnóstica.

Realizar el estudio en una sola célula, o en una blastómera, es un trabajo harto difícil: significa trabajar con una sola molécula de ADN, y son bien conocidos los inconvenientes que puede haber con la amplificación preferencial o que la calidad de ese ADN no sea el adecuado para obtener resultados. No se puede biopsiar más células, porque cuanto más se retiran menor será la probabilidad de implantación.

El desarrollo de los medios de cultivo y las incubadoras de última generación posibilitan en la actualidad el desarrollo in vitro hasta el estado de blastocisto. La desvitrificación de los blastocistos biopsiados nos permite ahora hacer transferencias en ciclos no estimulados con resultados mucho mejores que en ciclo en fresco. Tener el resultado de un estudio genético en unas cuantas horas, requiere tener un laboratorio dispuesto a trabajar en cualquier momento, y la verdad es que a nadie le gusta trabajar cuando los demás se están divirtiendo o descansando en un fin de semana o día feriado. La biopsia de blastocisto, la mayor cantidad de células del trofoblasto extraídas, el mayor tiempo para realizar los estudios y las buenas tasas de embarazo logrados, están convirtiendo a la biopsia de trofoblasto como la mejor opción. Nosotros

comenzamos a trabajar en trofoectodermo, ni bien se empezaron a comunicar las mejores tasas de embarazos y antecedentes neonatológicos con la transferencia de blastocistos desvitrificados. Recuerdo que pretendimos presentar los primeros resultados en un congreso nacional, pero fue rechazado. Nuestra reacción entonces fue enviarlo a una revista especializada del exterior para evaluar la posibilidad de publicación, el cual fue aceptado rápidamente. Nosotros registramos los datos de los casos efectuados en el PGD Consortium de la Sociedad Europea de Reproducción y Embriología Humana ESHRE. Nuestro laboratorio es el N° 60 de 129 laboratorios alrededor del mundo que registran sus datos en el Consorcio. Antes de terminar me gustaría comentar algunos datos del Consorcio de PGD de ESHRE. Al principio la mayoría de los diagnósticos preimplantatorios eran por riesgo genético aumentado, pero en los últimos años se incrementó notablemente el *screening* de aneuploidías embrionarias, primeramente por FISH (*fluorescent in situ hybridization*) y en la actualidad por aCGH (*comparative genomic hybridization*) o de SNPs (*single nucleotide polymorphism*) virando ahora hacia la secuenciación masiva en paralelo (NGS) buscando la transferencia del embrión con genes perfectos. Pero, existen los embriones con genes perfectos?? Indudablemente vamos hacia una medicina predictiva. Los laboratorios proponen cada vez mejores test diagnósticos, pero aún no validados clínicamente. Hasta el momento con los ensayos clínicos efectuados desconocemos la tasa de falsos positivo y negativo que tienen esas pruebas utilizadas en el diagnóstico preimplantatorio. Considero que así como los laboratorios deben diseñar mejores *tests* validados analíticamente, nosotros quienes nos dedicamos a los análisis clínicos, debemos validarlo clínicamente, con ensayos clínicos bien diseñados. Este comienzo del siglo se ha caracterizado por la explosión de todas las ómicas, cuya finalidad en definitiva es asociar el fenotipo con sus resultados, o sea poder utilizar su valor predictivo para seleccionar al mejor. Indudablemente la medicina va en camino hacia una medicina predictiva, pero la pregunta que nos debemos hacer es si es lícito o correcto realizar estudios genéticos invasivos en embriones originados in vitro con apariencia normal o solamente es lícito en aquellos que se tiene sospecha de tener alguna anomalía. Mi escuela corresponde a esta última, deberán ser entonces los jóvenes profesionales quienes encuentren los beneficios de una medicina predictiva.

premio enero 2013

EL BLOQUEO DEL RECEPTOR AT1 DE LA ANGIOTENSINA II Y LA INHIBICIÓN DEL estrés OXIDATIVO Previenen los Efectos NOCIVOS del Exceso de SAL EN LA dieta sobre LOS sistemas CARDIOvascular y renal

SL Della Penna*, MI Rosón*, M Choi*, C Cerrudo*, G Cao, A Fellet*, AM Balaszczuk*, E Zotta, Toblli JE, BE Fernández*.

*Cátedras de Fisiopatología y Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, §Cátedra de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA, INFIBIOC, CONICET, & Laboratorio de Medicina experimental, Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Objetivos. En la actualidad el promedio individual de ingesta de sal en todo el mundo supera ampliamente las necesidades fisiológicas. En personas que son sensibles a la sal, una dieta con alto contenido de sodio puede fomentar tanto el desarrollo de hipertensión arterial como enfermedades renales y cardiovasculares. El objetivo de este trabajo fue profundizar los conocimientos actuales de los efectos del exceso de sodio sobre el riñón y la vasculatura *in vivo*, especialmente dirigido a examinar la expresión de la enzima sintasa del óxido nítrico (eNOS), los receptores AT1 y AT2 de la Angiotensina II y las acuoporinas 1 y 2; y su modulación por la Angiotensina II local mediante la administración de losartán como antagonista del receptor AT1, y por el estrés oxidativo, mediante la administración de tempol como mimético de la enzima superóxido dismutasa.

Métodos. Se alimentaron seis grupos de ratas Sprague-Dawley (200-220g) durante 3 semanas con: NS (dieta normosódica, 0,4% de NaCl); HS (dieta hipersódica, 8 % de NaCl); NS-T: (dieta normosódica más tempol); HS-T: (dieta hipersódica más tempol); NS-L: (dieta normosódica más losartán) y HS-L (dieta hipersódica más losartán). Tempol (1mM) y losartán (40mg.kg⁻¹) se administraron en el agua de bebida. Después de 3 semanas de tratamiento, la presión arterial se registró por el método pletismográfico en la cola de la rata. A continuación, los animales se anestesiaron para el estudio de la función renal, y posteriormente se sacrificaron. Se disecaron el riñón, la aorta torácica y pequeñas arterias (ramas bronquiales de la aorta), y se procesaron para evaluar la expresión de la enzima eNOS, las acuoporinas 1 (AQP1) y 2 (AQP2) y los receptores AT1 y AT2.

Resultados. El grupo HS mostró un aumento en la presión arterial. En aorta incrementó la inmunoexpresión de eNOS y AQP1 en la capa muscular íntima pero disminuyó en la capa media, respecto al grupo NS. En tejido renal, el grupo HS mostró un incremento en la expresión de AT1 y una disminución de AT2, eNOS, AQP1 y AQP2. Estos cambios fueron prevenidos mediante la administración de losartán y tempol, que asimismo tuvieron un efecto hipotensor y natriurético.

Conclusiones. Los resultados obtenidos permiten concluir que un exceso de sodio en la dieta suministrado a ratas normales es capaz de incrementar la presión arterial, regulando en menos la expresión de eNOS en el músculo liso arterial y en el tejido renal y que estos cambios son prevenidos mediante el bloqueo de los receptores AT1 por losartán y por la inhibición del estrés oxidativo por el tempol, sugiriendo que las alteraciones están asociadas a la acción local de la Ang II y del estrés oxidativo. El presente estudio proporciona una base para el desarrollo potencial de fármacos que restauren la menor expresión de eNOS, como una nueva estrategia en la hipertensión.

INTRODUCCION

El sodio y el cloro son los dos elementos que se combinan para formar cloruro de sodio (sal de mesa). En el organismo, el sodio se encuentra principalmente en el plasma sanguíneo y es el principal catión extracelular. El organismo utiliza el sodio para controlar la presión arterial y mantener los volúmenes circulantes. El sodio está presente tanto en alimentos naturales (por ejemplo, en la leche: $50\text{mg Na}\cdot 100\text{g}^{-1}$ aproximadamente) como en alimentos procesados y condimentos (por ejemplo, en hamburguesas: $1500\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ aproximadamente). En personas sanas, el exceso de sodio es excretado, pero algunas enfermedades renales, sin embargo, interfieren con la excreción de sodio provocando retención de líquido y edema. El agua constituye aproximadamente el 70% de nuestra masa corporal y cada día nuestros riñones filtran y reabsorben alrededor de 180 litros de agua. Por lo tanto, se requiere una distribución apropiada de agua para mantener el equilibrio de fluidos dentro de los diferentes compartimentos anatómicos. La retención de agua que se produce por exceso de sodio en el organismo, es mediada principalmente a través de canales proteicos llamados acuoporinas (AQPs), que son proteínas que regulan el movimiento de agua a través de las membranas celulares. Las AQPs están formadas por 6 α -hélices que tienen una estrecha abertura en el interior, desde donde pueden pasar las moléculas de agua. Cuatro de estas proteínas (subunidades) están dispuestos en paralelo y forman un quinto poro en el centro del tetrámero (Fig. 1). Las dos principales AQPs que se encuentran localizadas en el riñón son la 1 (AQP1) y la 2 (AQP2). La AQP1 que reabsorbe el 80 % del filtrado glomerular [3], se localiza en la membrana apical y basolateral de los túbulos proximales, en las células epiteliales de la rama descendente delgada de Henle y en las células endoteliales de la vasa recta [1, 2]. La AQP2, que reabsorbe el 20% restante del fluido tubular [4], se localiza en la membrana apical y vesículas intracelulares de los túbulos colectores.

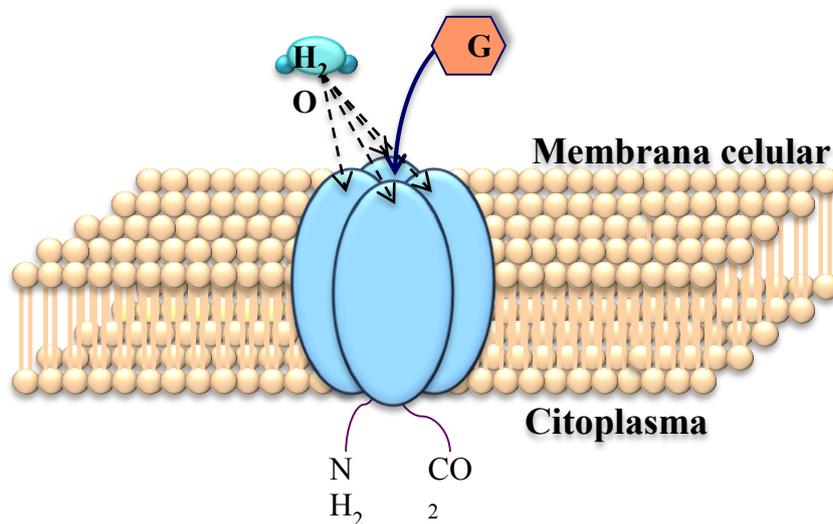


Figura1.

Las acuoporinas (AQPs) son proteínas transmembrana formados por 4 subunidades que forman tetrámeros. Cada subunidad tiene 6 α -hélices que tienen una estrecha abertura en el interior, desde donde pueden pasar las moléculas de agua. Estos tetrámeros forman un poro central que puede transportar ciertos gases(G) como el CO₂ y el NO.

Figura

La importancia de las AQP2 reside en las respuestas a los cambios fisiológicos o patológicos, ya que pueden ser activadas o desactivadas por diferentes mecanismos de regulación. Por ejemplo, la vasopresina (hormona antidiurética) transloca AQP2 de las vesículas intracelulares desde el citosol a la membrana plasmática apical y estimula la transcripción del gen de AQP2 (Fig. 2) [5], lo que produce una mayor reabsorción de agua.

También se ha sugerido que el poro central puede transportar ciertos gases tales como CO₂ y óxido nítrico (NO). Recientemente, Garvin y col. han demostrado la participación de la AQP1 como un canal para el transporte de NO a través de la membrana celular facilitando el transporte de NO fuera del endotelio, hacia la célula del músculo liso vascular [6-8].

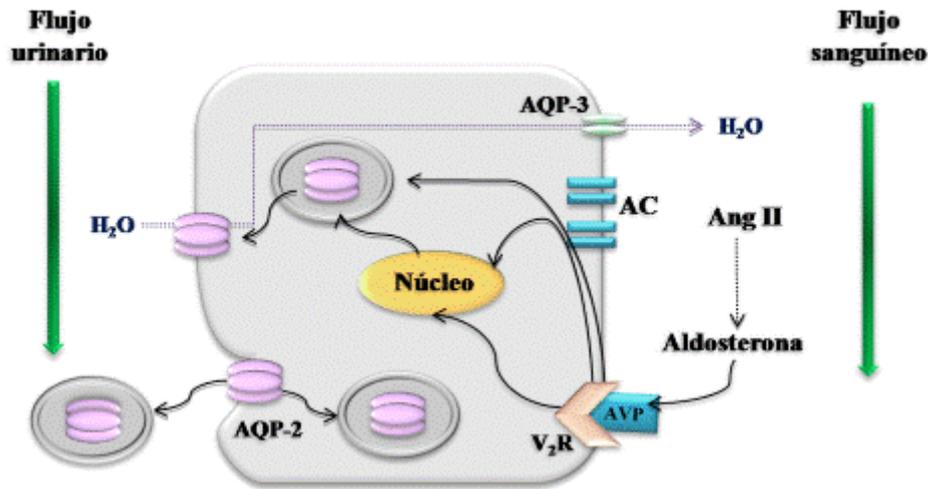


Figura 2. Esquema simplificado de la AQP2 en las células principales del conducto colector. La vasopresina actúa sobre los receptores V₂ (V₂R) en la membrana plasmática basolateral. La angiotensina II (Ang II) es capaz de estimular la liberación de la aldosterona y por lo tanto la inducción de esta etapa. Adenilil ciclasa (AC) se activa, acelera la producción de AMPc y la activación de la subunidad catalítica de la proteína quinasa A (PKA) (no se muestra). PKA fosforila AQP2 en vesículas intracelulares y en los núcleos, activa factores de transcripción, aumentando así la transcripción de genes de AQP2, su síntesis y el tráfico a la membrana plasmática apical. En paralelo, tiene lugar la síntesis y el tráfico de AQP3 a la membrana plasmática basolateral.

Consumo de sal en la dieta y alteraciones fisiopatológicas relacionadas con el exceso de Sal.

En la actualidad, el promedio individual de ingesta de sal en todo el mundo supera ampliamente las necesidades fisiológicas, y en personas que son sensibles a la sal, una dieta con alto contenido de sodio puede desencadenar tanto el desarrollo de hipertensión arterial como enfermedades renales y cardiovasculares [9, 10]. De acuerdo a las nuevas guías sobre la ingesta de sodio aceptadas por la OMS los adultos deberían consumir menos de 2g de sodio (Na) o 5g de sal (NaCl) por día [11]. A pesar de todos los esfuerzos que se han hecho sobre este tema, el consumo de sal en la población general permanece dos veces mayor que los niveles recomendados internacionalmente [12].

Una excesiva ingesta de sal incrementa la retención de agua y sodio, provocando la expansión del volumen sanguíneo y la aparición de anomalías vasculares como el incremento de la resistencia periférica, a través de un efecto neurogénico [13]. Por otro lado, el exceso de sodio, además de favorecer directamente la retención de agua, produce una respuesta inflamatoria renal, que incrementa aún más la retención de sodio y agua.

Uno de los efectos de la dieta con alto contenido de sal (dieta hipersódica, HS) es la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) en el sistema vascular y renal [14-16]. Las EROs son productos del metabolismo celular normal y derivan de “*pooles*” enzimáticos y no enzimáticos de diferentes compartimientos celulares. En el sistema cardiovascular, las EROs juegan un papel fundamental sobre la función endotelial, el tono vascular, la función cardíaca, la inflamación, la hipertrofia, la apoptosis, la migración, la fibrosis y la angiogénesis, todos procesos importantes que contribuyen al remodelado cardiovascular en la hipertensión y otras enfermedades cardiovasculares [17, 18]. Los *pooles* enzimáticos de las EROs implicados en las enfermedades cardiovasculares incluyen a las enzimas sintasa de óxido nítrico (NOS) desacopladas, xantino-oxidasa, ciclooxigenas y la NADPH oxidasa. Esta última parece ser particularmente importante en el desarrollo de la hipertensión [19-21]. Muchos modelos experimentales de hipertensión arterial muestran evidencias de estrés oxidativo. Los ratones deficientes de enzimas generadoras de ROS tienen baja presión arterial en comparación a los controles *wild-type*, y la infusión de angiotensina II (AngII) falla en inducir hipertensión en este modelo [22, 23]. En los seres humanos, las evidencias son menos convincentes, con muchos estudios mostrando solo asociaciones indirectas entre las EROs y la hipertensión arterial [24, 25].

El sodio filtra libremente a través de los glomérulos, y un 99% de la carga filtrada es reabsorbida a lo largo del nefrón (principalmente en los túbulos proximales) por un sistema integrado de canales, intercambiadores iónicos y transportadores. La reabsorción de sodio es un factor determinante del consumo de oxígeno renal [26, 27]. En estudios previos nuestros y de otros autores, se describió la presencia de una respuesta pro-inflamatoria renal, secundaria al exceso de sodio (Fig. 3), la que a su vez, favorecería aún más la retención de sodio y por lo tanto el desarrollo de hipertensión arterial [28-34]. El aumento de la reabsorción de sodio en los túbulos renales intensifica la demanda metabólica de oxígeno, lo que produce una disminución en la tensión de oxígeno del tejido (pO_2) [35]. El aumento del consumo de oxígeno produce una hipoxia relativa en los tejidos renales. La hipoxia, junto con un aumento del flujo renal y el mayor transporte de sodio, estimulan en conjunto, la formación de EROs, los que inducen un aumento de la expresión de factores nucleares de transcripción, tales como el activador de la proteína-1 (AP-1) y el factor nuclear kappa B (NF-kB). El factor NF-kB activa los genes implicados en las respuestas inflamatorias y fibróticas, los que inducen la acumulación de células inflamatorias en el riñón y la liberación de moléculas de adhesión (V-CAM 1, I-CAM 1), quimoquinas (MCP-1, RANTES) y citoquinas (factor de crecimiento transformante-beta1, TGF- β 1), así como también la síntesis de Ang II local renal [14]. La Ang II renal, señala a través del receptor AT1 estimulando la enzima NADPH oxidasa que produce más EROs, y a su vez la activación del factor NF-kB y la expresión de genes pro-inflamatorios, cerrando así un circuito de retroalimentación “*feedback*” positivo [36].

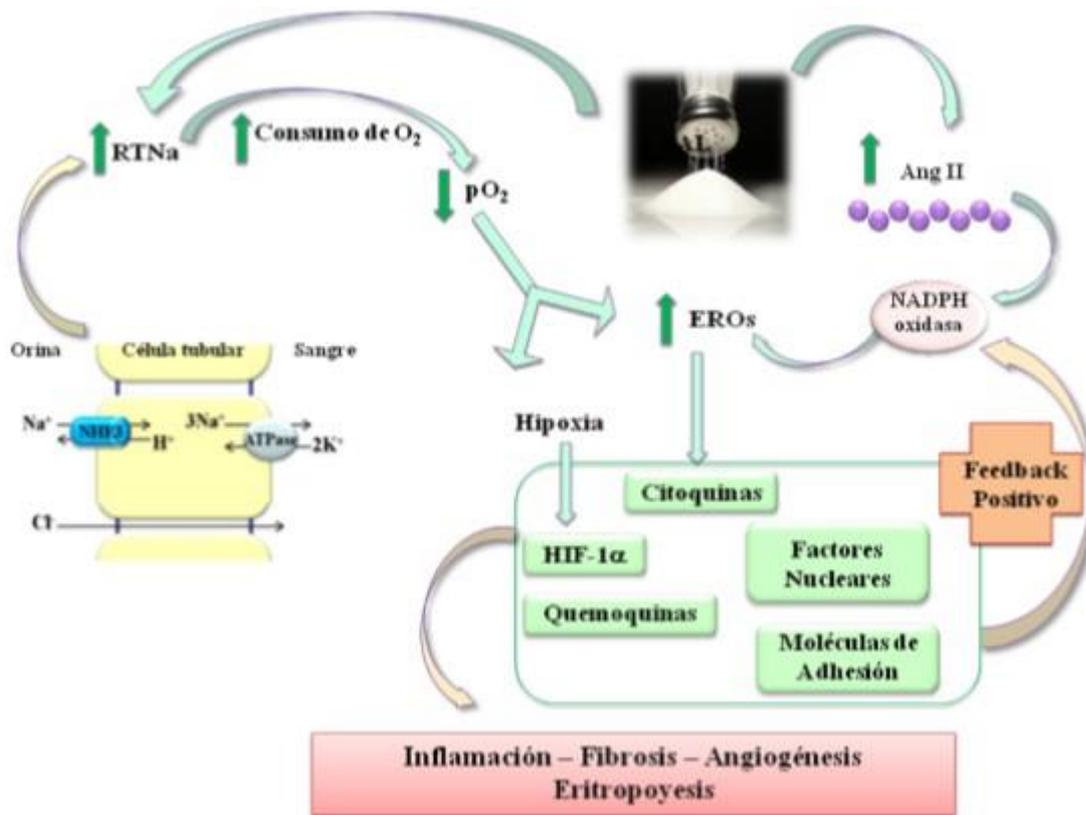


Figura 3. Marcadores de inflamación inducidos por exceso de sal. Una elevada ingesta de sal aumenta la reabsorción tubular de sodio y por lo tanto el consumo de oxígeno. Una mayor demanda de oxígeno reduce la disponibilidad de O₂, provocando hipoxia relativa. La hipoxia, junto con un aumento del flujo renal y el mayor transporte de sodio, estimulan la formación de especies reactivas del oxígeno (EROs). La producción de Ang II es regulada en más en el riñón y estimula la NADPH oxidasa para producir más EROs. De ello se desprende una cascada de activación de moléculas de adhesión, quimoquinas, citoquinas y factores nucleares, conduciendo a la inflamación, fibrosis, angiogénesis, y la eritropoyesis, cerrando una retroalimentación positiva.

Sistema Renina-Angiotensina

El principal regulador hormonal de la homeostasis del sodio es el sistema renina-angiotensina-aldosterona, el cual contribuye en gran parte a la regulación de la presión arterial. Consiste en una cascada bioenzimática de péptidos y proteínas cuyo principal efector es el octapéptido activo, Ang II [14]. La Ang II es un importante regulador fisiológico del tono vascular, la homeostasis de fluidos, la presión sanguínea, la actividad simpática y la respuesta a la sed. La Ang II produce, además de su clásico efecto vasoconstrictor, una acción estimulante del crecimiento celular, apoptosis, migración celular, e incrementa la expresión de genes proinflamatorios y de la matriz extracelular.

La Ang II a través de la activación de la enzima NAD (P) H oxidasa es la vía común de los principales mecanismos de transducción de señales involucrados en la fisiopatología renal [37]. El anión superóxido y el peróxido de hidrógeno influyen sobre diversas vías de señalización intracelular, que incluyen a factores de transcripción, enzimas tirosina-quinasa y tirosina-fosfatasa, canales iónicos y proteínquinas activadas por mitógenos (MAPKs).

Si bien inicialmente se lo describió como un sistema endócrino circulante, posteriores hallazgos permitieron redefinir el sistema. Hay evidencias que la expresión y acción de todos los componentes del sistema renina-angiotensina se producen no solo en la circulación periférica, sino también en varios órganos incluyendo riñón, corazón, cerebro, glándula suprarrenal y la vasculatura. En el riñón,

la renina y su ARNm se localizan en el túbulo proximal y en las células principales de los túbulos colectores. La enzima convertidora de angiotensina (ACE) se encontró en los segmentos de la nefrona distal y el angiotensinógeno en túbulo proximal y en la orina [38], siendo la Ang II producida localmente y alcanzando una concentración 100 veces mayor en el lumen que en el plasma [14].

De esta manera, la Ang II localmente formada en el riñón puede contribuir a enfermedades renales mediante la inducción de retención de sodio, inflamación y fibrosis en condiciones patológicas [15].

Los efectos de la Ang II están mediados por la estimulación de dos subtipos de receptores, denominados tipo 1 (AT1) y tipo 2 (AT2). Los receptores AT1 se expresan de forma ubicua en el riñón, mediando la vasoconstricción de las arteriolas aferentes y eferentes y de la microvasculatura medular, modulando la tasa de filtración glomerular, el mecanismo de retroalimentación túbulo glomerular, y el crecimiento celular. Además, la Ang II en el riñón modula la actividad de diversos transportadores de iones, tales como el intercambiador Na^+/H^+ , el co-transportador NKCC2, el cotransportador NCC y los canales de sodio ENaC [39], como así también de las AQP1 y AQP2 [14, 40, 41]. En conjunto, estas acciones de la Ang II contribuyen de una manera sinérgica para aumentar la capacidad de los riñones para conservar el sodio y mantener la presión arterial dentro de los niveles normales. Los receptores AT2 se localizan en las células epiteliales glomerulares, túbulos proximales y colectores, y en la vasculatura renal. Ellos son considerados como antagonistas funcionales de los receptores AT1, y están asociados a la vasodilatación, la apoptosis, la acción antiproliferativa y el aumento de la natriuresis, mediante la estimulación de la señal NO/GMPC/proteína quinasa [42]. Además, hay una enzima homóloga de la ECA, la ECA2, que cliva la Ang II en Ang-(1-7) que se une al receptor Más contraregulando la acción de la Ang II [38].

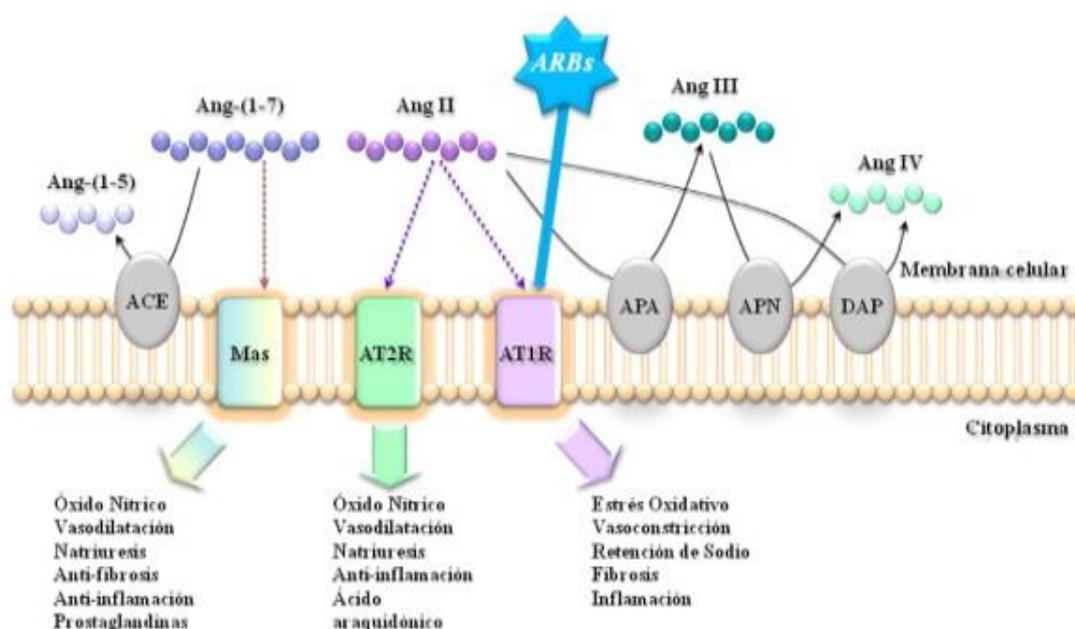


Figura 4. Péptidos del metabolismo de la angiotensina y sus principales funciones. La angiotensina-(1-7) es metabolizada por la ECA para formar Ang-(1-5). La angiotensina II (Ang II) es procesada por la aminopeptidasa A (APA) para formar la angiotensina III, que se hidroliza aún más por la aminopeptidasa N (APN) para formar la angiotensina IV. Ang II puede escindirse directamente por la dipeptidil aminopeptidasa IV (DAP) produciendo Ang IV. Ang-(1-7) se une al receptor Más para producir efectos anti-inflamatorios. Ang II puede unirse a AT2R o AT1R. Mediante la unión a AT2R, se estimula la eNOS para producir óxido nítrico (NO) para la vasodilatación. Cuando la Ang II se une a AT1R, estimula la NADPH oxidasa para producir ERO. Antagonistas de los receptores AT1 inhiben los efectos de la Ang II a través de la unión a ARBs.

El desarrollo de la lesión renal y la hipertensión están estrechamente relacionados con la regulación inadecuada del sistema. Para los pacientes hipertensos con enfermedad renal se recomienda como tratamiento de primera línea usar inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o antagonistas del receptor AT1 (fig. 4). Estos inhibidores atenúan la enfermedad renal en los estudios preclínicos y clínicos, son eficaces, bien tolerados, y mejoran la morbilidad y la mortalidad asociadas a enfermedades cardiovasculares. Ellos no sólo ejercen su efecto a nivel sistémico reduciendo los valores elevados de la presión arterial, sino también aumentando la biodisponibilidad del óxido nítrico tisular [43].

Disfunción Endotelial por Exceso de Sal. Papel del Óxido Nítrico

La generación de NO es esencial para el mantenimiento de la salud cardiovascular. Ejerce efectos beneficiosos, incluyendo la regulación del tono vascular, la atenuación de la inflamación y la remodelación vascular. El anión superóxido, reacciona rápidamente con el NO y reduce su biodisponibilidad, además de inhibir la eNOS y reduciendo su síntesis [44] (Fig. 5).

El óxido nítrico se forma a partir de su precursor L-arginina por una familia de sintasas del óxido nítrico (NOS) con producción estequiométrica de L-citrulina [45-48]. El sistema de NOS consiste de tres isoformas codificadas por tres genes diferentes: NOS neuronal (nNOS, también conocida como NOS-1); NOS inducible (iNOS, también conocida como NOS-2) y NOS endotelial (eNOS, también conocida como NOS-3). Inicialmente se describió que nNOS y eNOS son expresadas en forma constitutiva, principalmente en sistema nervioso y endotelio vascular, respectivamente. Estas isoformas sintetizan pequeñas cantidades de NO de modo calcio-dependiente, bajo condiciones basales y en respuesta a una estimulación, mientras que la iNOS es inducida solo cuando es estimulada por toxinas microbiológicas o ciertas citoquinas proinflamatorias, produciendo una gran cantidad de NO de modo calcio-independiente. Sin embargo, posteriormente se descubrió que la iNOS es también expresada constitutivamente aún bajo condiciones fisiológicas [49, 50], y que la nNOS tiene una importante participación en el sistema cardiovascular [51, 52].

En el endotelio, el NO es producido por vasorelajantes, como la acetilcolina. Difunde desde el endotelio a las células del músculo liso vascular donde estimula la guanilato ciclasa soluble para producir cGMP (monofosfato de guanosina cíclica), provocando relajación [2]. En los seres humanos, una ingesta aguda de sal deteriora la dilatación arterial, como se comprobó en la arteria braquial, mediada por el flujo sanguíneo [53], mientras que una ingesta crónica incrementa la presión arterial [54]. Por su parte, ratas hipertensas jóvenes sujetas a una dieta hipersódica tienen dañada la relajación dependiente e independiente de endotelio, comprobado en anillos de aorta aislada, debido a una menor disponibilidad de óxido nítrico [55].

Más recientemente, se ha demostrado que el músculo liso vascular también expresa eNOS constitutivamente, lo que puede representar un mecanismo alternativo por el cual, la producción local de NO también puede modular la función vascular, independientemente de la producción de NO por el endotelio [56]. En este sentido, se observó que la capa media de la aorta de rata genera NO en una cantidad suficiente para modular la contractilidad vascular [57]. Charpie y Webb proporcionaron evidencias funcionales para el papel de NO derivada de músculo mostrando que el NO modula el tono vascular de la aorta torácica [58].

Las células endoteliales de la íntima, además de activarse por estímulos relajantes, también son estimuladas por efectos mecánicos ejercidos por la fuerza de fricción del flujo de sangre sobre la capa endotelial de la íntima, facilitando la expresión de eNOS y la consecuente producción de NO [59, 60]. Por otro lado, el estiramiento circunferencial mecánico, que distiende las capas íntima, media y

adventicia, puede aumentar la producción de EROsen el endotelio y músculo liso a través de la estimulación de la actividad de la NAD (P)H oxidasa [61, 62]. Por lo tanto, la producción de NO puede ser alterada en las capas íntima y media vascular por estímulos mecánicos durante cambios de flujo de presión, en los que se producen fuerzas de fricción o estiramiento circunferencial respectivamente. Sin embargo, hasta el presente, no ha sido evaluada la expresión de la eNOS en la capa muscular de arterias de ratas alimentadas con dieta HS.

El NO interviene también en múltiples procesos fisiológicos del riñón, incluyendo el control de la hemodinamia renal y glomerular. El NO dilata la arteriola aferente y la eferente; aumentando la tasa de filtración glomerular (TFG) y regula el manejo renal de sodio a lo largo de varios segmentos tubulares del nefrón, desde el asa gruesa ascendente de Henle hasta el túbulo distal y el conducto colector [63]. El NO también es responsable del control de la natriuresis por presión, del mantenimiento de la perfusión medular, del *feedback* túbulo- glomerular y de la actividad nerviosa simpática sobre la función renal [64]. El efecto neto del NO en el riñón es promover la natriuresis junto con la adaptación renal en respuesta al aumento de la ingesta de sal en la dieta [65]. La eNOS se expresa fuertemente en el endotelio glomerular y vascular renal, aunque también se expresa en los túbulos renales [63]. La producción de NO se reduce en la enfermedad renal crónica, lo que contribuye a las enfermedades cardiovasculares y a la progresión del daño renal. Existen muchas causas posibles de la deficiencia de NO en la enfermedad renal crónica, como la limitación en la disponibilidad de sustrato (L- arginina), el aumento en los niveles de inhibidores endógenos circulantes de laNOS, en particular dimetilarginina asimétrica [66].

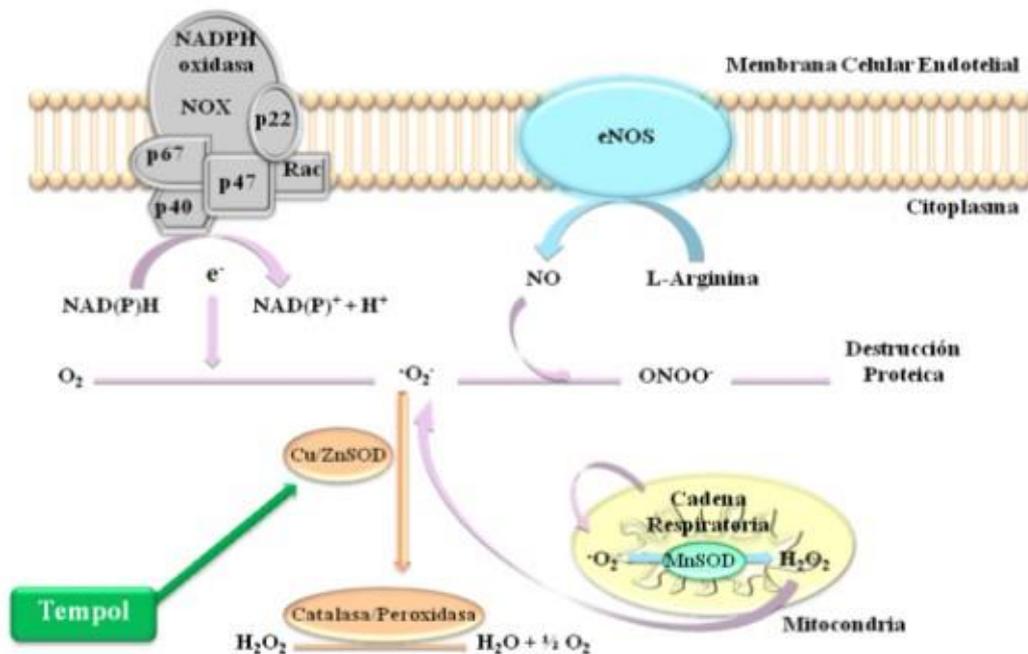


Figura 5. Producción y destrucción de especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico. NADPH oxidasa estimulada por estiramiento mecánico, péptidos vasoactivos, hormonas de crecimiento y citoquinas, convierten NAD(P)H en la NAD(P)⁺ y H⁺ y la liberación de un electrón que convierte el oxígeno (O₂) en un radical de oxígeno, el anión superóxido (·O₂⁻). El anión superóxido se transforma por la enzima superóxido dismutasa (SOD) en H₂O₂ y este en agua y oxígeno por la catalasa o peroxidasa. El óxido nítrico sintasa (endotelial, eNOS) produce el vasodilatador óxido nítrico (NO) por la metabolización de la L-arginina. El NO también puede unirse a ·O₂⁻ y generar peroxinitrito (ONOO⁻), otro de los radicales del oxígeno que produce daño. El tempol es capaz de imitar las acciones de la SOD que metabolizan O₂⁻.

HIPOTESIS

Nuestra hipótesis establece que la administración crónica de una sobrecarga de NaCl en la dieta es capaz de alterar la función cardiovascular y renal, a través de la estimulación del sistema Renina-Ang II local, por activación de la vía AT1-estrés oxidativo, y/o por inhibición de la vía AT2-eNOS en el músculo liso vascular y en el riñón. Este proceso debería ser prevenido y/o revertido mediante la administración de losartán, como antagonista del receptor AT1, o de tempol, como mimético de la superóxido dismutasa e inhibidor del estrés oxidativo.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es profundizar los conocimientos actuales de los efectos del exceso de sodio en la dieta, sobre el riñón y el tejido vascular *in vivo*, está especialmente dirigido a examinar la presión arterial, la funcionalidad renal y la expresión renal y vascular de eNOS y AQP1, y su modulación por la Ang II a través de los receptores AT1 y AT2 mediante la administración de losartán como antagonista del receptor AT1, y de tempol como inhibidor de estrés oxidativo.

MÉTODOS

Protocolo Experimental

Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley (5-6 semanas de edad; 180-200g de peso corporal). Se alojaron en jaulas a temperatura controlada ($23 \pm 2^\circ \text{C}$) y se expusieron a un ciclo diario de 12 horas luz-oscuridad (luz desde 07:00 hasta 19:00hs). Todos los animales bebieron agua ad libitum. Los experimentos se realizaron preservando los principios de ética, de acuerdo con las directrices institucionales de la Universidad de Buenos Aires para el cuidado y uso de animales de investigación. Los animales fueron divididos al azar en seis grupos (n=6 por grupo): NS (control): animales alimentados con una dieta normosódica (0,4 g % NaCl); HS: animales alimentados con una dieta hipersódica (8g% de NaCl); NS-L: animales alimentados con una dieta normosódica más losartán ($40 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, Missouri, EE.UU) administrado junto con el agua de bebida; HS-L: animales alimentados con una dieta hipersódica más losartán; NS-T: animales alimentados con una dieta normosódica más tempol (1mM en el agua de bebida); HS-T: animales alimentados con una dieta hipersódica más tempol. Al final de la tercera semana, previo entrenamiento de los animales, se midió la presión arterial sistólica (PAS) por el método pletismográfico, colocando un manguito en la cola, y se registró en un polígrafo Grass 79D. El último día de la tercera semana, los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con uretano ($1,2 \text{ g} \cdot \text{Kg}^{-1}$) para evaluar la función renal. Un tubo de polietileno PE-90 (3 cm de largo) se insertó en la tráquea para mantener abierta la vía respiratoria y la vena femoral izquierda se cateterizó con una cánula de Silastic (0,12 mm id) para la infusión continua de soluciones. La vejiga se canuló para la recolección de la orina usando una cánula PE-75. Se infundió con solución salina isotónica (SSI; 0,15 M NaCl), a razón de $0,04 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ (bomba de infusión, SageTM, Orion) durante 60 minutos por vena femoral, para conseguir una diuresis constante y permitir realizar un periodo de recolección de orina. Se continuó la infusión con SSI durante otros 60 min a la misma velocidad (periodo experimental). Se recogieron una muestra de sangre a los 30 min del periodo experimental y una muestra de orina durante los 60 min del periodo experimental para realizar las determinaciones del volumen de orina, y las concentraciones de sodio y creatinina en plasma y orina. Posteriormente, las ratas se sacrificaron. Los riñones, la aorta torácica descendente (muestras de 25 mm de largo) y las ramas

bronquiales de la aorta (arterias pequeñas, muestras de 10 mm de largo) se extrajeron y se procesaron rápidamente para Western blot y estudios histológicos mediante la técnica de inmunohistoquímica para evaluar la expresión de eNOS, AT1, AT2, AQP1 y AQP2.

Mediciones en sangre y orina

Las determinaciones de sodio y creatinina en orina y plasma se realizaron por métodos convencionales usando un autoanalizador. El aclaramiento de creatinina se determinó para evaluar la tasa de filtración glomerular (TFG). La TFG y la excreción fraccional de sodio (EF_{Na}) se calcularon de acuerdo a una fórmula estándar. El flujo urinario (UV) se expresa como $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$, la excreción urinaria de sodio (UV_{Na}) como $\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$, la concentración urinaria de sodio (UNa) como $\text{mEq}\cdot\text{L}^{-1}$, la TFG como $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y la EF_{Na} como porcentaje.

Procesamiento del riñón para Western blot de las acuaporinas

Una vez extirpados los riñones, se disecaron inmediatamente la corteza y la médula renales. Las muestras de tejidos se homogeneizaron en hielo (Biospec Products Inc.) en una mezcla de solución tampón: 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de Tris, 0,1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de EDTA, 0,1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EGTA, 1% de Triton, 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PMSF, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pepstatina, 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ leupeptina, 1x cóctel inhibidor de proteasa (Roche Diagnostic). La concentración de proteína se determinó por la técnica de Lowry en el sobrenadante soluble en Triton. Las muestras de corteza y médula que contienen cantidades similares de proteína (100 μg de proteína por calle) se separaron por electroforesis en geles de 7.5% de poliacrilamida (Bio-Rad, Munich, Alemania), se transfirió a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad), y después se incubó con anticuerpo policlonal de conejo anti-AQP-1 (Santa Cruz Biotechnology, dilución 1:250) o con anticuerpo policlonal de conejo anti-AQP-2 (Santa Cruz Biotechnology, dilución 1:250). Posteriormente, se llevó a cabo una inmunorreacción con un anticuerpo secundario anti-conejo de cabra conjugado con peroxidasa (dilución 1:5000). Las muestras se revelaron por quimioluminiscencia utilizando el reactivo ECL durante 2-4 min (Amersham Pharmacia Biotech). La densidad de las respectivas bandas se cuantificó por densitometría utilizando un escáner Hewlett-Packard y un software de analizador de TotalLab (biodinámica Corp., Seattle, WA). La concentración de proteínas se calculó por densitometría. Los niveles de proteína se expresan como la relación entre el anticuerpo a medir y las bandas de β - actina (Ensayo Designs Inc).

Procesamiento de riñón y vasos para estudios histológicos

Al final del periodo experimental, las arterias y los riñones fueron extirpados rápidamente, decapsulados, cortados longitudinalmente; se fijaron en buffer fosfato 10 % de formaldehído (pH 7,2) y se embebieron en parafina usando un protocolo estándar. Se cortaron secciones transversales en serie (3 μm de espesor) de cada muestra usando un micrótopo y se guardaron para análisis de inmunohistoquímica. Brevemente, las secciones fueron desparafinadas con xileno, rehidratadas en concentraciones decrecientes de solución de etanol, sometidas a la recuperación de antígenos en 10 mM de buffer citrato, pH 6,0 durante 15 min mediante el uso de microondas a potencia máxima, y enfriadas a temperatura ambiente durante 20 min. La actividad de la peroxidasa endógena se bloqueó por tratamiento con peróxido de hidrógeno al 3% en metanol durante 30 minutos. Las secciones se incubaron con suero normal apropiado durante 1 h, y luego overnight a 4°C con anticuerpo policlonal de conejo contra la eNOS (dilución 1:200; Santa Cruz Biotechnology, Inc.), con anticuerpo policlonal de cabra contra AT1 (dilución 1:500; Santa Cruz Biotechnology, Inc.), con

anticuerpo policlonal de cabra contra AT2 (dilución 1:500; Santa Cruz Biotechnology, Inc.), con anticuerpo policlonal de conejo contra AQP1 (dilución 1:50; Santa Cruz Biotechnology, Inc.) o con anticuerpo policlonal de conejo contra AQP2 (dilución 1:200; Santa Cruz Biotechnology, Inc.). Después de la incubación con anticuerpos primarios, las secciones se incubaron secuencialmente con anticuerpo secundario biotinilado y luego con el complejo avidina-biotina-peroxidasa (kit Vectastain ABC, Universal Elite, Vector Laboratories, CA) durante 30 minutos cada uno. El producto de la reacción se visualizó usando peróxido de hidrógeno y tetrahidrocloruro de diaminobencidina (DAB) como cromógeno. El control de inmunohistoquímica se realizó omitiendo el anticuerpo primario. Todas las secciones fueron finalmente contrastadas con hematoxilina, se deshidrataron y se montaron en DPX. La inmunotinción positiva apareció de color marrón debido al producto de reacción del DAB, donde la hematoxilina contrastó los núcleos celulares que aparecieron de color azul. Para evaluar la intensidad de la inmunotinción se analizaron cinco secciones de cada muestra. Se obtuvieron imágenes de aorta torácica y pequeñas arterias digitalmente usando un objetivo de 100X, y se analizaron con un microscopio óptico (Olympus) equipado con analizador de imágenes (Image Pro-Plus, 4.5.1). La intensidad de la tinción se calculó como densidad óptica integrada (DOI) por área arbitraria y se midió en cinco campos aleatorios para cada sección. El campo fue seleccionado al azar por un investigador que desconocía la asignación de los grupos de animales.

Análisis estadístico

Los resultados de la presión arterial sistólica y las inmunotinciones se expresan como media \pm SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron usando la prueba de ANOVA seguido por la de Newman-Keuls. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos.

RESULTADOS

Presión Arterial Sistólica y Función Renal

Los pesos corporales no fueron significativamente diferentes entre los grupos experimentales (NS: 315 ± 9 , HS: 320 ± 6 , NS-L: 270 ± 8 , HS-L: 320 ± 2 , NS-T: 314 ± 10 , HS-T: 320 ± 7).

La PAS aumentó en el grupo HS con respecto al grupo NS (mmHg, NS: 126 ± 2 , HS: 148 ± 2 , $p < 0,01$). La administración de losartán redujo la PAS en un rango similar en los grupos NS y HS (NS-L: 108 ± 2 , HS-L: 121 ± 4 , $p < 0,05$). La administración de tempol redujo la PAS en el grupo HS-T, llegando a niveles muy similares a los observados en el grupo NS, y no modificó los niveles de PAS en los animales alimentados con dieta NS (NS-T: 133 ± 2 , HS-T: 125 ± 4).

La tabla 1 muestra los parámetros de la función renal. La diuresis (UV) aumentó en el grupo HS en comparación con el grupo NS. Losartán y tempol no alteraron UV en el grupo NS-L y NS-T, pero aumentaron UV aún más en el grupo de HS-L e HS-T respectivamente. La natriuresis (UVNa) exhibió un comportamiento muy similar a la diuresis UV: fue mayor en el grupo del HS que en el grupo NS. Losartán y tempol no modificaron UVNa en el grupo NS-L e HS-T, pero aumentaron aún más en el grupo de HS-L e HS-T respectivamente. La concentración urinaria de sodio (UNa) aumentó en el grupo HS en comparación con el grupo NS; mientras que losartán y tempol aumentaron la UNa en ambos, en los grupos NS-L, HS-L y NS-T e HS-T respectivamente. El índice de filtración glomerular (TFG) no se alteró en el grupo HS respecto al grupo NS. Losartán disminuyó el TFG en el grupo NS-L, pero no se alteró en el grupo HS-L. Tempol incrementó el TFG en el grupo HS-T respecto del grupo HS e NS-T. La excreción fraccional de sodio (EF_{Na}) aumentó en el grupo HS en relación con el grupo NS; mientras que losartán aumentó en ambos grupos, NS-L e HS-L, pero con una diferencia entre ellos similar a la observada entre los grupos NS y HS. La administración de Tempol incrementó la EF_{Na} solo en el grupo HS-T respecto del grupo HS e NS-T.

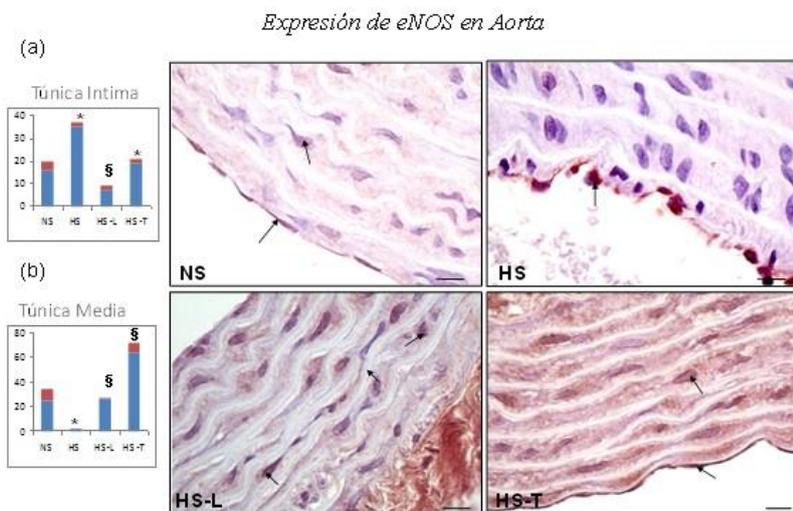
| | UV | UV _{Na} | U _{Na} | TFG | EF _{Na} |
|------|------------|------------------|-----------------|-----------|------------------|
| NS | 9,1±2,2 | 0,4±0,3 | 20,6±5,2 | 1,5±0,4 | 0,08±0,05 |
| HS | 16,1±2,1* | 2,9±1,6* | 184,7±16,7* | 1,4±0,3 | 0,51±0,24* |
| NS-L | 8,6±2,1 | 0,5±0,1 | 59,3±9,1† | 0,4±0,1† | 0,25±0,09† |
| HS-L | 27,2±1,4*† | 8,5±0,5*† | 315,0±23,5*† | 1,5±0,5 | 1,3±0,01*† |
| NS-T | 7,5±1,4 | 0,5±0,4 | 50,2±23,5† | 1,4±0,4 | 0,07±0,01 |
| HS-T | 42,6±6,4*† | 13,5±2,5*† | 267,00±19,5*† | 3,1±0,5*† | 1,4±0,03*† |

Tabla 1. Parámetros de Función Renal. UV: El flujo urinario ($\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$); UV_{Na}: la excreción urinaria de sodio ($\mu\text{Eq}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$); U_{Na}: concentración urinaria de sodio ($\text{mEq}\cdot\text{L}^{-1}$), el TFG: tasa de filtrado glomerular ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$); EF_{Na}: Excreción fraccional de sodio (%). NS: dieta normosódica; HS: dieta hipersódica; NS-L: dieta normosódica más losartán; HS-L: dieta hipersódica más losartán. Los valores se expresan como media \pm SEM. * $p < 0,05$ vs control de la respectiva normosódica (NS y NS-L); † $p < 0,01$ frente al control respectivo sin losartán (NS y HS).

Resultados en vasos arteriales

La Fig. 6 muestra que la expresión de eNOS aumentó en el endotelio de la aorta en el grupo HS con respecto a NS, siendo este aumento impedido por la administración de losartán o tempol. Por otro lado, la expresión de eNOS disminuyó en la capa media de la aorta en ratas HS respecto a las ratas NS. Esta disminución también fue impedida por la administración de losartán o tempol. Por otra parte, la expresión de eNOS alcanzó niveles aún más altos en el tratamiento con tempol que en el grupo NS. El tempol y el losartán no modificaron por sí mismos los niveles de expresión de eNOS y AQP1 en las ratas alimentadas con dieta NS (datos no presentados).

Figura 6. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de eNOS en capa o túnica íntima



(a) y en la capa o túnica media (b) de la aorta como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectivo, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartán. Las microfotografías representan la inmunotinción de eNOS en la aorta de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); HS-L (dieta hipersódica más losartán) e HS-T: (dieta hipersódica más tempol). Las flechas indican la tinción positiva para la eNOS en el endotelio y en la túnica media. La barra de escala: 10 μm .

Se puede observar en la Fig. 7 que la expresión de AQP1 aumentó en el endotelio y en la capa (túnica) media de la aorta en el grupo HS respecto al grupo NS. Este aumento fue inhibido por la administración de losartán y de tempol.

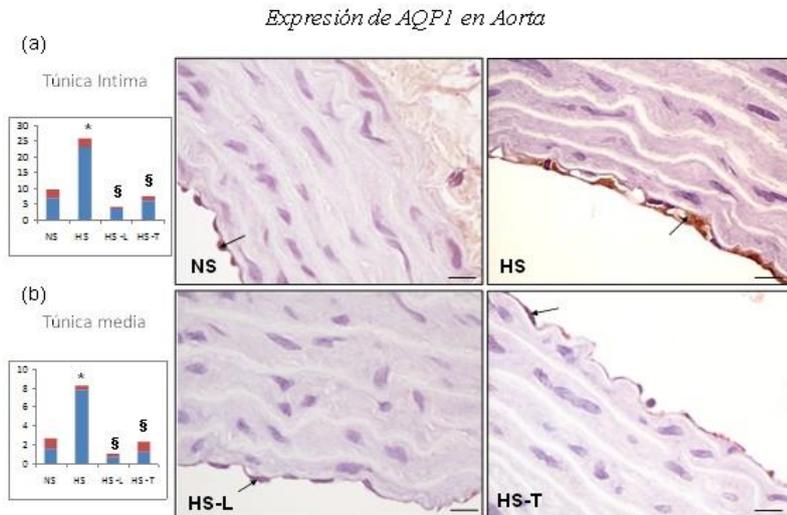


Figura 7. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de AQP1 en la íntima (a) y en la túnica media (b) de la aorta como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectiva, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartán. Las microfotografías representan inmunotinción de AQP1 en la aorta de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); HS-L (dieta hipersódica más losartán) e HS-T: (dieta hipersódica más tempol). Las flechas indican la tinción positiva para la AQP1 en el endotelio y en la túnica media. La barra de escala: 10µm.

normosódica); HS (dieta hipersódica); HS-L (dieta hipersódica más losartán) e HS-T: (dieta hipersódica más tempol). Las flechas indican la tinción positiva para la AQP1 en el endotelio y en la túnica media. La barra de escala: 10µm.

En la Fig. 8 se observa que la inmunotinción de eNOS disminuyó en la capa media de las arterias pequeñas en ratas alimentadas con HS, mientras que se mantuvo inalterado en el endotelio en las mismas muestras de tejidos.

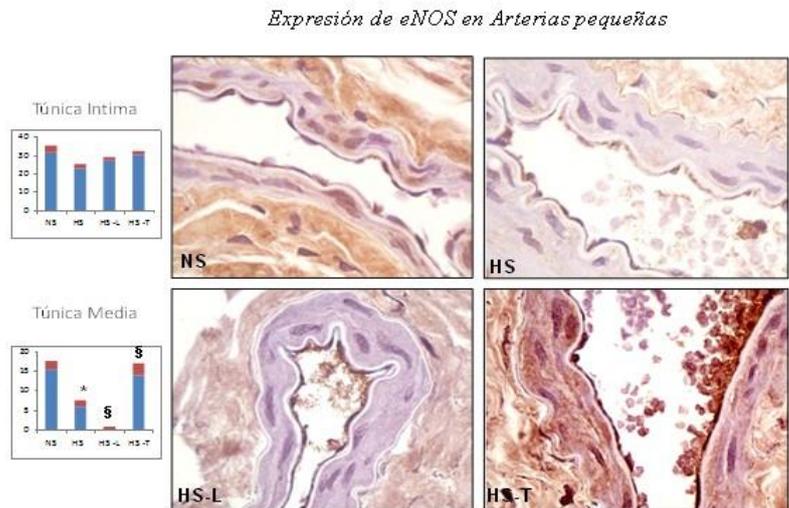


Figura 8. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de eNOS en la íntima (a) y en la túnica media (b) de las arterias pequeñas aorta como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectiva, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartán. Las microfotografías representan inmunotinción de eNOS en la aorta de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); HS-L (dieta hipersódica más losartán) e HS-T: (dieta hipersódica más tempol). Las flechas indican la tinción positiva para la eNOS en el endotelio y en la túnica media. La barra de escala: 10µm.

La Fig. 9 muestra que la inmunotinción de AQP-1 estuvo ausente en la capa media de las arterias pequeñas en todos los grupos estudiados.

Expresión de AQP1 en Arterias Pequeñas

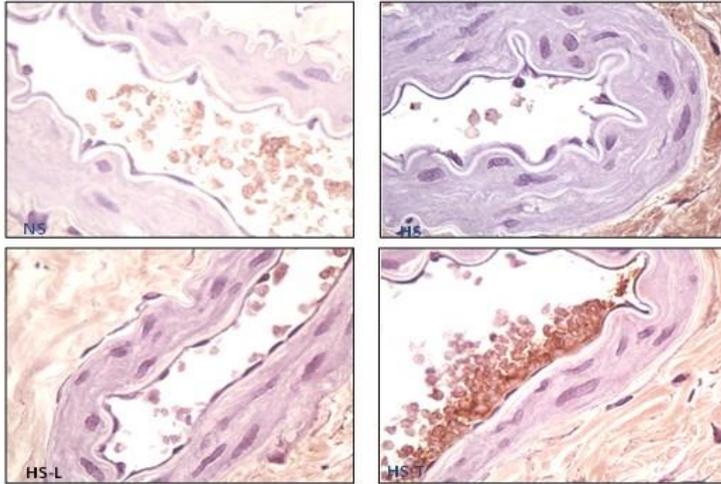
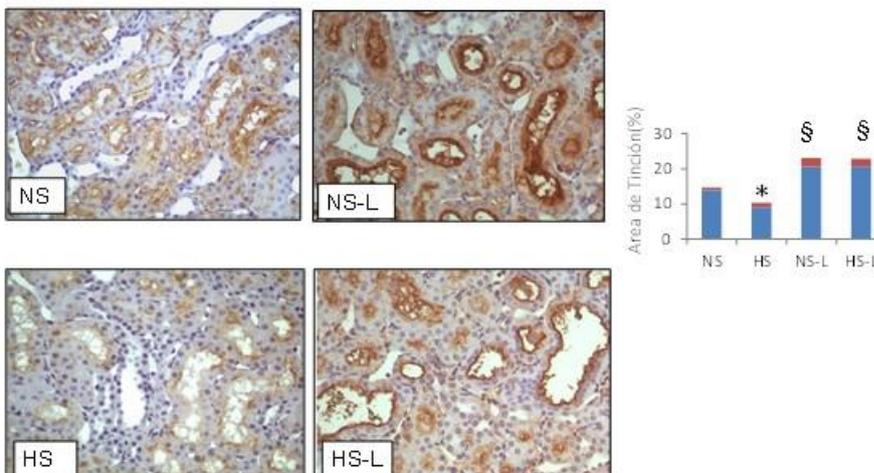


Figura 9. Las microfotografías muestran la ausencia de inmunotinción para AQP1 en el endotelio y la capa media de las arterias pequeñas de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); HS-L (dieta hipersódica más losartán) e HS-T: (dieta hipersódica más tempol). Las flechas indican la tinción positiva para la eNOS en el endotelio y en la túnica media. La barra de escala: 10µm.

Resultados en tejidos renales

La Fig. 10 muestra la inmunotinción de AQP1 en el tejido renal. La expresión de AQP1 se redujo en los túbulos proximales del grupo HS, y aumentó después de la administración de losartán tanto en el grupo NS- L como el grupo HS- L.

Expresión de AQP1 en Corteza Renal



Expresión de AQP1 en Médula Renal

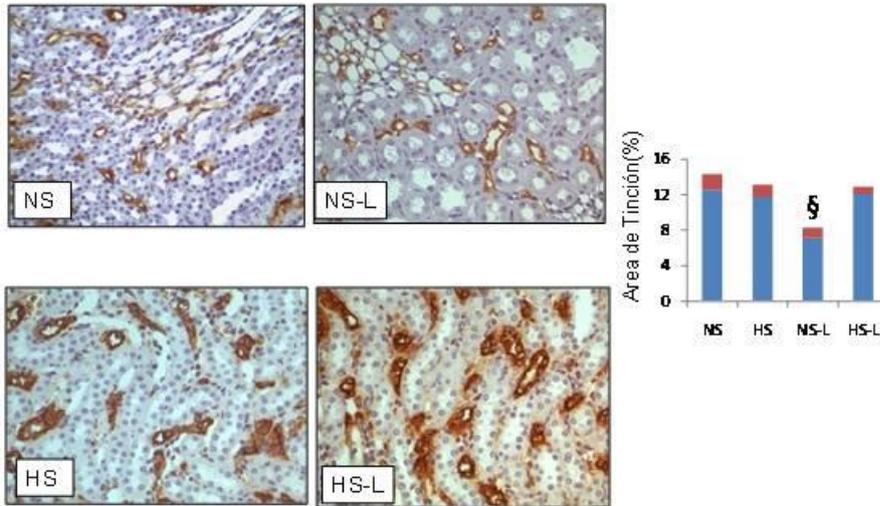


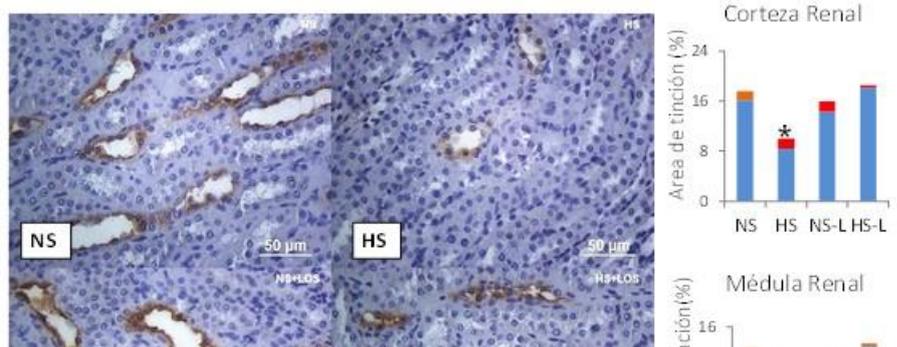
Figura 10. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de AQP1 en corteza y médula renal como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectiva, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartan. Las microfotografías representan inmunotinción de AQP1 en corteza renal (túbulos proximales) y en

médula renal (asa delgada de Henle y capilares peritubulares) de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); NS-L (dieta normosódica más losartán) e HS-L: (dieta hipersódica más losartán). La barra de escala: 20 μ m.

La Fig. 11 muestra que la inmunotinción de AQP2 en los tejidos renales disminuyó en los conductos colectores corticales y medulares del grupo HS. Esta disminución fue prevenida mediante la administración de losartán.

Figura 11. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de AQP2 en corteza y médula renal como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectiva, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartan. Las microfotografías representan la inmunotinción de AQP2 en médula renal (túbulos colectores medulares) de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); NS-L (dieta normosódica más losartán) e HS-L: (dieta hipersódica más losartán). La barra de escala: 20 μ m.

Expresión de AQP2 en Riñón



La Fig. 12 muestra la abundancia de proteína de AQP1 y AQP2 determinadas por Western blot. La expresión de AQP1 se encontró ligeramente, pero significativamente disminuida en el grupo HS con respecto al grupo NS. La administración de losartán aumentó la expresión de AQP1, tanto en el grupo NS-L como en el grupo HS-L. La expresión de AQP2 se redujo significativamente en el grupo HS, en comparación con el grupo NS y se normalizó en el grupo HS-L.

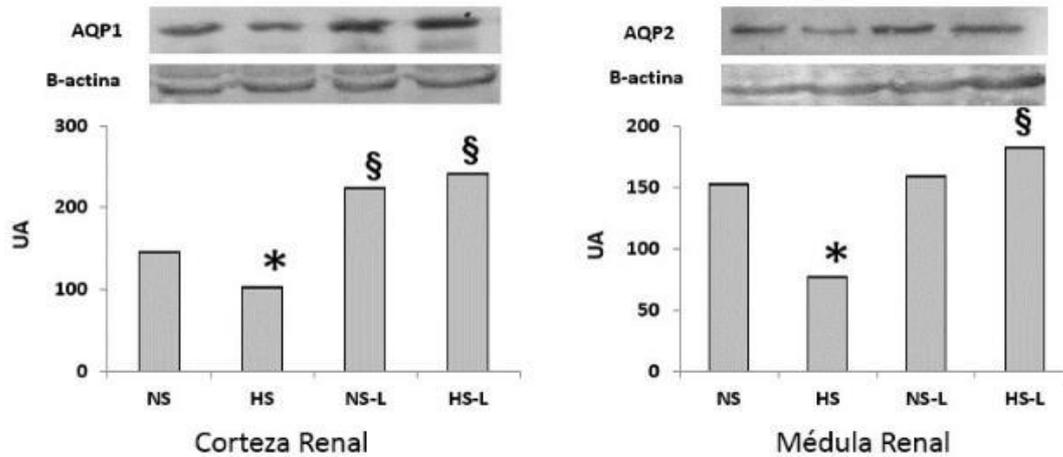
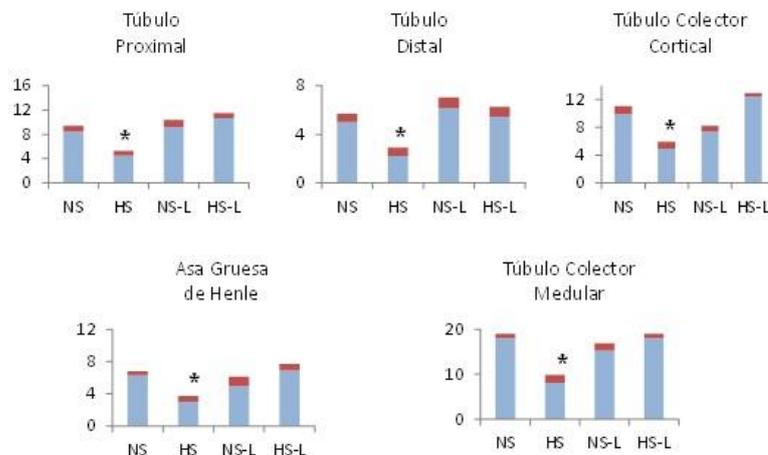


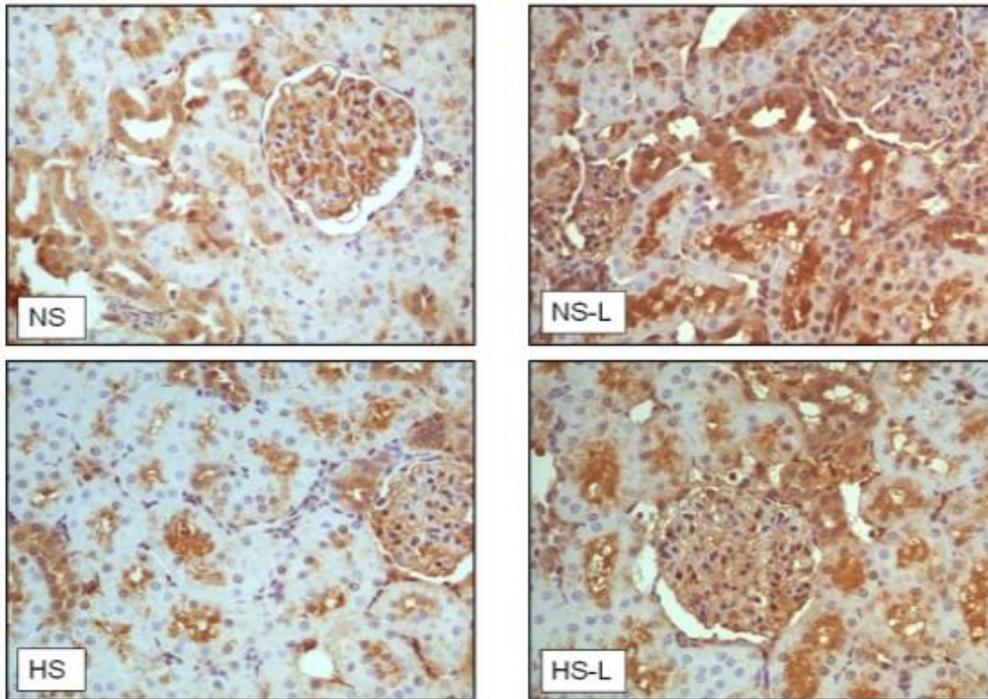
Figura 12. Western blot de AQP1 y AQP2. Abundancia de proteína de AQP1 en la corteza renal y de AQP2 en médula renal de los grupos NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); NS-L (dieta normosódica más losartán) e HS-L: (dieta hipersódica más losartán). Los valores [media ± SEM, n=5] representan la media de unidades de densitometría después de la sustracción del fondo (UA: unidades arbitrarias). Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Cada transferencia se normalizó con la banda de β-actina expresada en el mismo gel. * p<0,05 frente al grupo NS respectivo, § p<0,05 vs respectivo grupo sin losartán.

La Fig. 13 muestra la inmunotinción de eNOS en corteza y médula renal. La expresión intrarrenal de la eNOS fue marcadamente disminuida en las células tubulares de la corteza y la médula renal del grupo HS con respecto al grupo NS. La administración de Losartán, que no mostró efectos en ratas NS, impidió la disminución de la inmunotinción de eNOS en el grupo HS-L, que mostró una tinción similar a la observada en el grupo NS.

Expresión de eNOS en Túbulos Renales



Expresión de eNOS en Corteza Renal



Expresión de eNOS en Médula Renal

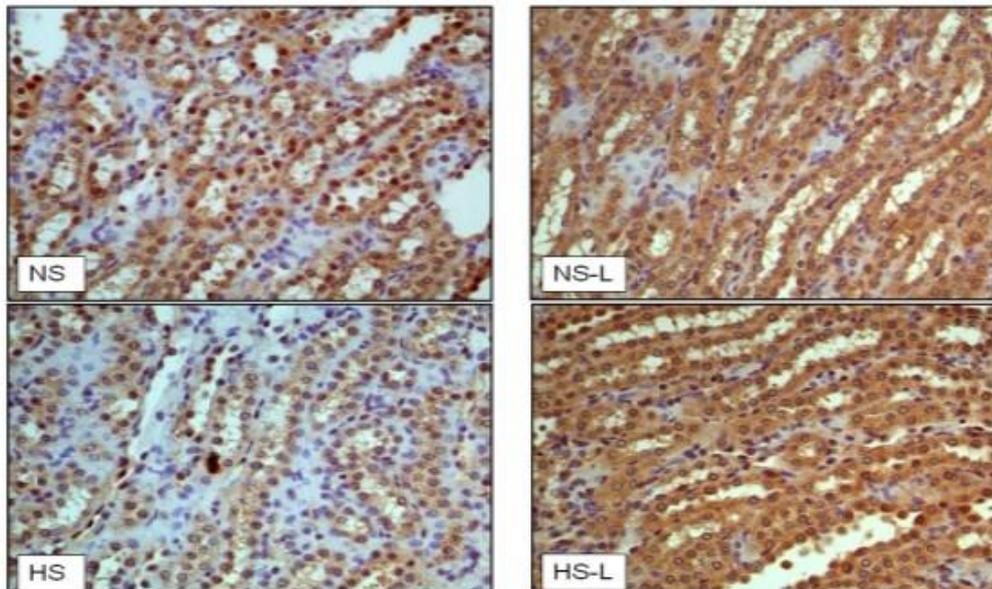
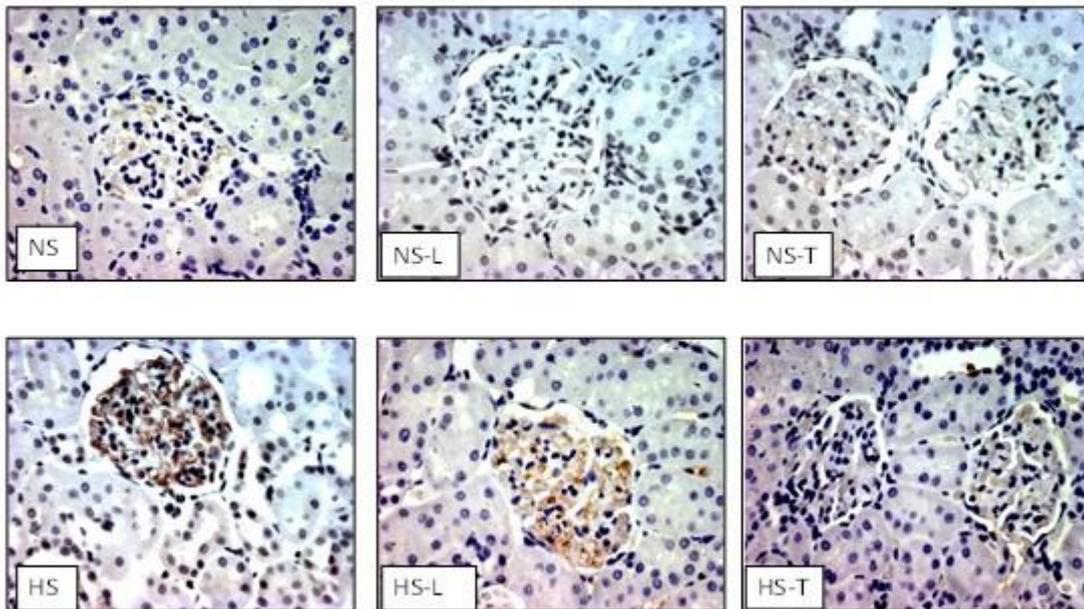
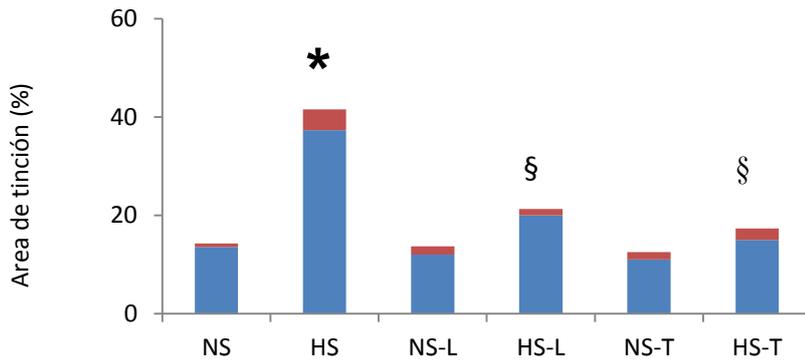


Figura13. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de eNOS en túbulos de corteza (túbulos proximales, distales y colectores corticales) y de médula renal (asa gruesa de Henle y túbulos colectores medulares) como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectiva, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartán. Las microfotografías muestran imágenes representativas de la tinción positiva correspondiente a expresión de eNOS (400x) en corteza y médula renal de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hipersódica); NS-L (dieta normosódica más losartán) e HS-L: (dieta hipersódica más losartán). La barra de escala: 20 μ m.

La **Fig. 14** muestra la inmunotinción de AT1 en corteza y médula renal respectivamente. La expresión intrarrenal de la eNOS fue marcadamente aumentada en la corteza y la médula renal del grupo HS con respecto al grupo NS. El suministro de Losartán y tempol, no mostró efectos en las ratas NS, pero previno los cambios observados en los grupos HS-L y HS-T respectivamente, que mostraron una tinción similar a la observada en el grupo NS.

Expresión de AT1 en Corteza Renal



Expresión de AT2 en Médula Renal

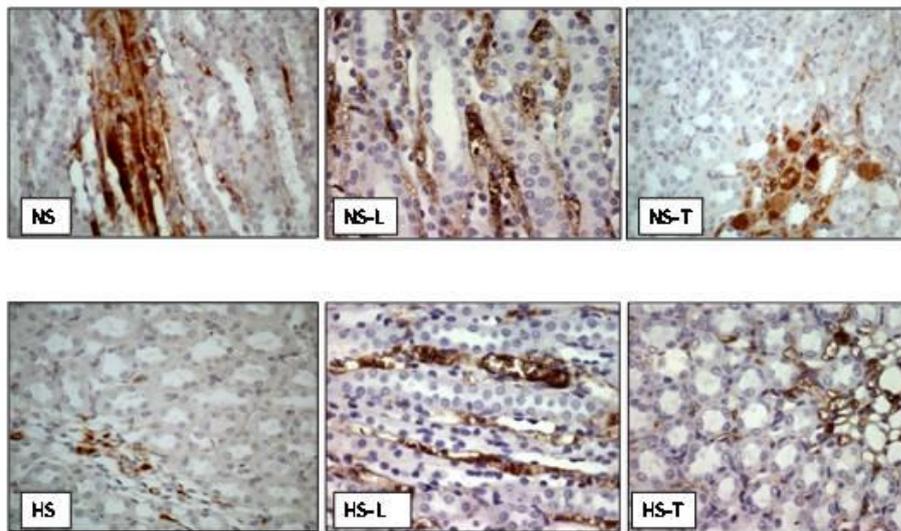
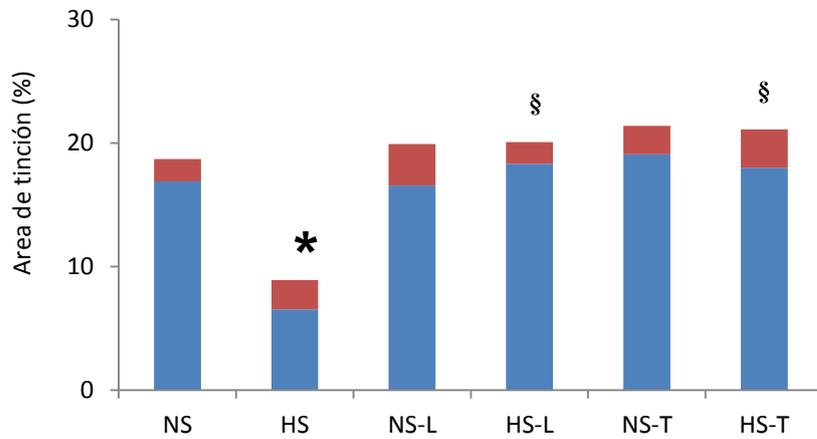


Figura 15. Los gráficos muestran la evaluación cuantitativa de la inmunotinción de AT2 en corteza y en médula renal como porcentaje (%) de área teñida. Los datos se expresan como media \pm SEM; * $p < 0,05$ frente al grupo NS respectiva, § $p < 0,05$ vs grupo respectivo sin losartán. Las microfotografías muestran imágenes representativas de la tinción positiva correspondiente a expresión de AT2 (400x) en corteza y médula renal de los grupos: NS (dieta normosódica); HS (dieta hiperosódica); NS-L (dieta normosódica más losartán), NS-T (dieta normosódica más tempol), HS-L (dieta hiperosódica más losartán) e HS-T (dieta hiperosódica más tempol). La barra de escala: 20 μ m.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo demostramos que las ratas alimentadas con una dieta HS presentan un incremento en la presión arterial, mayor expresión de la enzima eNOS en el endotelio de la capa muscular íntima de la aorta y de arterias pequeñas, pero en cambio, esta disminuida expresión de eNOS en la capa media del músculo liso vascular. Estos resultados describen por primera vez la existencia de una menor expresión de eNOS en la capa media de la aorta de ratas alimentadas con una dieta HS, la que se observa precozmente, antes de que se evidencien daños en la capa endotelial, como sucede en un estado de hipertensión arterial establecida. Al mismo tiempo, se confirma que, además del endotelio, las células del músculo liso vascular de la aorta y de las arterias pequeñas también expresan eNOS [67, 68].

El bloqueo de los receptores AT1 de la angiotensina II, por el losartán o la inhibición del estrés oxidativo mediante el tratamiento con tempol, previnieron el incremento en la presión arterial y la sobreexpresión de eNOS en el endotelio de la aorta y la disminución de su expresión en la capa media, con respecto a los animales alimentados con dieta HS. Se conoce que un aumento en el flujo laminar de la sangre se asocia simultáneamente con la regulación en más de la eNOS y la producción de NO en las células endoteliales. También el incremento del flujo laminar provoca una generación transitoria de superóxido y el aumento de la expresión de antioxidantes (glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa), promoviendo de este modo, la protección vascular [69]. Por otro lado, un flujo oscilatorio de la sangre puede inducir una mayor producción de EROs en la capa endotelial y la inhibición de la eNOS [70-72]. Por lo tanto, es posible postular que en nuestro estudio, la regulación en más de la expresión de eNOS en el endotelio de aorta en la fase temprana de la hipertensión sea consecuencia del resultado del balance entre la producción de superóxido por un lado y de sistemas antioxidantes, por otro lado. El sistema de defensa antioxidante incluye a la enzima superóxido dismutasa 1 (SOD1) intracelular y a la SOD3 extracelular, distribuidas en grandes cantidades en el endotelio y en el intersticio entre el endotelio y las células del músculo liso [73]. Dado que tanto el losartán como el tempol disminuyeron la presión arterial y por lo tanto redujeron los cambios en el flujo laminar, y normalizan la expresión de eNOS en el endotelio, sugerimos que el aumento en la expresión de eNOS que observamos en la capa íntima de la musculatura vascular en los animales alimentados con una dieta hipersódica, puede ser consecuencia de la elevación de la presión arterial y del flujo sanguíneo. En tal sentido, estudiamos entonces, si esta sobre-expresión de eNOS producida una dieta HS, puede observarse también en la túnica íntima de pequeñas arterias, un sector en el que el aumento de la presión arterial no produce aumento del flujo. Los resultados obtenidos muestran claramente que, en este caso, la expresión de eNOS permaneció inalterada en el endotelio de las arterias pequeñas, apoyando la idea que la sobre-expresión de eNOS es una consecuencia de la hipertensión asociada a un mayor flujo.

Se ha descrito que la AQP1 juega un papel esencial, facilitando la difusión de NO a través de la membrana celular para la relajación completa dependiente de endotelio en los anillos aórticos intactos de ratones knock out para AQP1-/- [6]. En el presente estudio hemos observado, al igual que lo sucedido con la expresión de eNOS, un aumento de la inmunotinción de AQP1 en el endotelio de la aorta de ratas alimentadas con una dieta HS. Este aumento fue prevenido tanto por el losartán como por el tempol, mientras que por otra parte, no se observó expresión de AQP1 en arterias pequeñas de animales alimentados con dietas NS o HS. Estos resultados sugieren que la expresión de AQP1 está asociada a la producción y difusión del NO.

La disminución de la expresión de eNOS en la capa media de la aorta y pequeñas arterias puede atribuirse al incremento del estiramiento circunferencial sobre las células del músculo liso, el cual, en estados hipertensivos está asociado con un aumento de la producción de superóxido y la activación de enzimas relacionadas, tales como la NAD(P)H oxidasa, tanto en las células endoteliales como en las de músculo liso [8, 74]. En tal sentido, se ha demostrado que los radicales libres disminuyen la biodisponibilidad de NO y regulan en menos la expresión de eNOS en la microcirculación [17]. Tanto el tempol como el losartán, en nuestros experimentos, impidieron la regulación en menos de la expresión de eNOS en la túnica media de la aorta, pero sólo el tempol tuvo efectos en las arterias pequeñas. El losartán, aunque normalizó la presión arterial en el grupo HS, produjo una caída de la presión arterial de la misma magnitud también en las ratas NS, manteniendo la diferencia de presión dependiente de la sal, lo que demuestra que los efectos del losartán sobre la expresión de eNOS en aorta y vasos pequeños es una acción indirecta, generada a través de cambios en la presión arterial. En el presente estudio, demostramos que la inmunotinción de AQP1 aumentó en la capa media de aorta de ratas alimentadas con dieta HS, siendo este incremento impedido por la administración de losartán y de tempol. Liu y col. [75] han sugerido que la AQP1 ejerce acciones en el transporte de agua en el músculo liso vascular, mediando un movimiento rápido a través de las membranas de la musculatura lisa de los vasos. Además se destacó que la AQP1 media los cambios en la hidratación durante el desarrollo del crecimiento [8]. A su vez, la AQP1 está asociada a la deposición de componentes de matriz extracelular [49]. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la AQP1 ejerce múltiples acciones, además del transporte de agua y el NO en el músculo liso de aorta. Son necesarios estudios adicionales para dilucidar que papel cumple un aumento de AQP1 en esta capa d el músculo liso vascular.

En el presente estudio, el aumento significativo en la presión arterial producido por la dieta HS, indujo el incremento de la excreción de sodio y agua, pero sin ambiar la TFG. Los resultados demuestran que, un exceso de sal en la dieta aumenta la expresión del receptor AT1 en corteza y médula renal mientras que regula simultáneamente en menos, la expresión del receptor AT2 de Ang II, las AQPs y la eNOS.

La administración simultánea de losartán en el grupo alimentado con dieta NS causó una disminución de la presión arterial sistólica y de la TFG, pero no modificó la excreción de sodio, aumentando así la EFNa. El control de la excreción de sodio y la presión arterial por la Ang II se ejerce a través de múltiples mecanismos intrarrenales, así como de mecanismos extrarrenales. Los efectos intrarrenales más importantes de la Ang II incluyen la constricción arteriolar eferente través de la estimulación del receptor AT1, así como los efectos directos sobre el transporte de sodio. El efecto constrictor sobre las arteriolas eferentes también es importante para la prevención de las reducciones de la TFG en circunstancias asociadas con la perfusión renal. Por lo tanto, la caída de la presión arterial y el efecto directo sobre las arteriolas eferentes producidos por el losartán en ratas normales puede provocar reducciones en la TFG, como hemos observado en este estudio.

Por el contrario, la administración simultánea de losartán en el grupo HS, aumentó aún más la excreción de sodio y agua, pero no modificó la TFG. Nuestro estudio reveló también que el losartán ejerce un efecto natriurético a nivel tubular, independiente de su efecto hipotensor y de los cambios en la TFG. Está bien documentado que los receptores AT1 renales, a través de la activación de los transportadores de sodio renal, producen efectos antinatriuréticos [76], mientras que los receptores AT2 activan la vía del óxido nítrico/GMPc que conduce a un aumento en la excreción urinaria de sodio [77, 78], influyendo así en la homeostasis renal de sodio y de fluidos. Por lo tanto, la acción natriurética de losartán no sólo puede deberse al bloqueo AT1, sino también a que queda desenmascarado el efecto de la Ang II, estimulando a los receptores AT2 disponibles y provocando

natriuresis también por esta vía. Por último, se observó que el losartán aumentó la concentración de sodio en la orina. En este aspecto, se ha descrito que la expresión de AQP2 renal se relaciona con los cambios en la actividad de la óxido nítrico sintasa [79]. Además, se ha demostrado que la activación de la vía dependiente de GMPc estimula la inserción de AQP2 a la membrana de la célula, un hecho que puede estar mediado por diferentes activadores de la vía cGMP, tales como el péptido natriurético ANP, L-arginina y el NO [80]. Por lo tanto, podemos sugerir que la disminución en la expresión de eNOS puede ser responsable de la regulación en menos de la expresión de AQP2 en los túbulos renales de las ratas sometidas a una dieta HS, y que la administración de losartán ejerce un efecto antidiurético través de la vía de señalización Ang II-AT2-óxido nítrico-GMPc.

Diversos estudios clínicos y experimentales han demostrado que la ingesta excesiva de sal aumenta el estrés oxidativo, la expresión del receptor AT1, así como los niveles renales Ang II [81-83], mientras que los receptores AT2 son reguladas en menos [84]. Sin embargo, Fox y col. informaron que, en condiciones normales, un aumento en la ingesta de sal inhibe ambos, tanto al sistema renina-Ang II circulante, como al tisular [85]. Apoyando esta afirmación, Lara y col. describieron que las ratas Sprague-Dawley sometidas a una dieta HS durante dos semanas no mostraron cambios en la excreción urinaria de angiotensinógeno, a pesar de que mostraron una mayor deposición de colágeno y aumento de la actividad NAD(P)H oxidasa en los riñones [86]. Por otra parte, debe señalarse que, el estrés oxidativo es capaz de inducir cambios moleculares conformacionales en la molécula de angiotensinógeno, lo que facilitaría una más rápida generación de Ang I cuando se expone a la renina [85]. En este sentido, nosotros hemos demostrado recientemente un aumento de la actividad de la NAD(P)H oxidasa y una respuesta profibrogenica en los riñones de ratas normales alimentadas con una dieta alta en sal, siendo todos estos cambios prevenidos por la administración de tempol [28]. Nuestros resultados pueden relacionarse con la inhibición de la Ang II intrarrenal, en lugar de la circulante, teniendo en cuenta que en nuestro modelo experimental la ang II circulante está reducida por la inhibición de la secreción de renina renal provocada por la sobrecarga de sodio. Recientemente, se ha reconocido que la Ang II local renal es una potente citoquina proinflamatoria y factor de crecimiento, implicada en la patogénesis de las enfermedades renales progresivas y en el desarrollo de fibrosis intersticial tubular a través del receptor AT1 [87], mientras que la estimulación del receptor AT2 reduce la inflamación y la fibrosis en el riñón isquémico, a través de estimular la liberación de óxido nítrico y la producción de GMPc [88]. Generalmente se admite una regulación negativa funcional entre los receptores AT1 y AT2 en varias condiciones fisiopatológicas, incluyendo la hipertensión arterial.

Además, la activación del receptor AT2 puede antagonizar directamente los receptores AT1 a través de la formación de heterodímeros con receptores AT1. En el presente trabajo se analizó la expresión de los receptores AT1 y AT2 en la médula renal y se comprobó la presencia de una relación inversa de la expresión de los mismos en el grupo alimentado con dieta HS. Estos cambios fueron prevenidos por el losartán. Esta disminución de los receptores AT2 en la médula renal se acompañó de una menor expresión de eNOS y AQP1. Además, se ha sugerido también que la fibrosis intersticial crónica causada por la Ang II puede ser el motivo de la regulación en menos de la AQP1. En este caso, Cao y col. [89] han demostrado que durante una lesión pulmonar aguda, los niveles de Ang II se correlacionan negativamente con el mRNA de AQP1 en los tejidos pulmonares. Del mismo modo, Jensen y col., demostraron que el tratamiento con el inhibidor de receptor AT1, candesartan, impidió la disminución de la expresión de AQP2 en respuesta a la obstrucción ureteral bilateral y atenuó la poliuria post-obstruiva, así como la pérdida renal de sodio [90]. Por otra parte, Hasler y col. demostraron que la activación del factor transcripcional NF- κ B por factores proinflamatorios tales como Ang II reducen la transcripción del gen de AQP2 [76]. Por lo tanto, ya que el losartán

evitó, en nuestro experimentos, los cambios en la expresión de eNOS y AQP1, es posible sugerir que la Ang II intrarrenal en el grupo HS pueda ser responsable de la regulación en menos de la eNOS y la AQP1 en el riñón. Por otra parte, la acción protectora del losartán no sólo podría ser debido al bloqueo de los receptores AT1, sino también a la estimulación de los receptores AT2 disponibles y de la respuesta a través de la señalización por la cascada eNOS-NO-cGMP, en los tejidos renales.

Además de prevenir la regulación en menos de AQP1, el losartán sobre-expresó AQP1 en túbulo proximal, tanto en el grupo NS-L, como en el grupo HS-L, lo que demuestra que el efecto sobre la AQP1 fue independiente de la sobrecarga de sodio. Para dilucidar el significado de estas observaciones, son necesarios efectuar más estudios complementarios en el futuro.

La administración simultánea de tempol con la dieta HS previno el incremento en la presión arterial, e incrementó la TFG y la excreción urinaria de agua y sodio. Estos resultados están de acuerdo con estudios anteriores, en los que se reportó que el tratamiento con tempol mejora la hemodinamia renal y la función excretora de electrolitos en modelos de hipertensión sensibles a la sal e inhibe el estrés oxidativo vascular y renal [14, 91]. El anión superóxido es un radical libre, conocido por estimular la reabsorción del sodio por la rama gruesa ascendente de Henle, a través de la activación del cotransportador Na⁺/K⁺/2Cl⁻ [92, 93], el intercambiador Na⁺/H⁺, y la bomba Na⁺/K⁺-ATPasa [91], procesos todos ellos, que se ven afectados por tempol. Por otra parte, el tempol puede aumentar el flujo de sangre a la médula renal más que a la corteza renal en diferentes modelos experimentales, lo que contribuye a aumentar la natriuresis y reducir los niveles de presión arterial [94, 95]. Es bien conocido que el tempol regula el mecanismo de retroalimentación túbulo-glomerular, reduciendo así la respuesta vasoconstrictora de la arteriola aferente, y en consecuencia, induce vasodilatación renal y una caída en los niveles de presión arterial. Por lo tanto, nuestros hallazgos sugieren que la hiperfiltración glomerular y el efecto natriurético provocada por tempol contribuyen a evitar un aumento de la presión arterial.

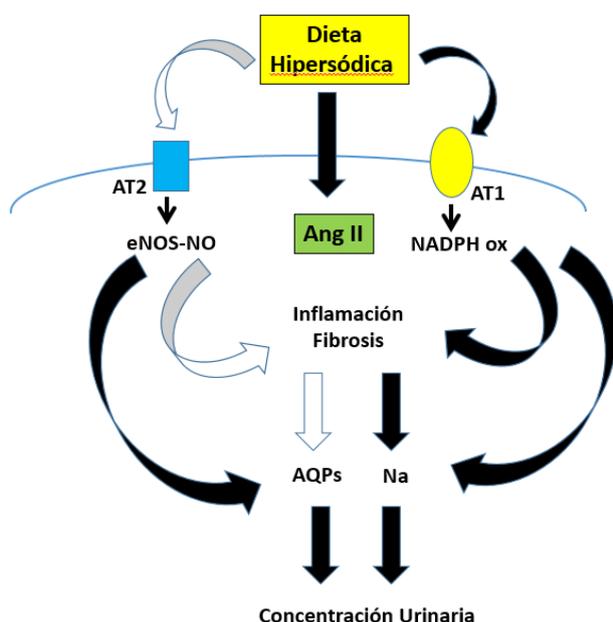


Figura 16. Figura esquemática que resume nuestros hallazgos en riñón. Las flechas blancas indican la inhibición; flechas negras indican la estimulación. Una dieta alta en sal puede contribuir a aumentar la expresión de Ang II en las células tubulares renales. Ang II intrarrenal, a través de los receptores AT1 puede estimular la producción de citoquinas que causan la inflamación y la fibrosis, la activación de óxido de NAD(P)H, la regulación en menos de las AQPs y la retención de sodio, aumentando la concentración de orina. Por otro lado, la cascada de señalización AT2-eNOS-NO que normalmente contrarresta las acciones estimulantes de los receptores AT1 puede ser suprimida por una dieta alta en sal, lo que refuerza los efectos de la estimulación AT1. Estos efectos fueron impedidos

por el bloqueo del receptor AT1 con la administración de losartán, lo que sugiere que la Ang II intrarrenal tiene también efecto profibrogenico perjudicial y disminuye la capacidad de concentración urinaria en el riñón. El hecho de que el losartán también normalizó la expresión de eNOS, sugiere que sus efectos antifibróticos, natriuréticos y antiidiuréticos pueden atribuirse en parte a la estimulación del receptor AT2 desenmascarado por el losartán.

Como se ilustra en la Figura 16, una dieta alta en sal contribuye a aumentar la expresión de Ang II intrarrenal, la que a su vez, a través de sus receptores AT1, puede regular negativamente la expresión de eNOS y AQP1, y estimular la expresión de AT2 con la consecuente producción de citoquinas, inflamación y fibrosis. El antagonista AT1 losartán aumentó la inmunoexpresión de eNOS, AT2 y AQP1. Por lo tanto, la cascada de señalización de AT2-eNOS-NO puede ser suprimida por una dieta alta en sal. Estos efectos se evitaron mediante la administración de losartán, lo que sugiere que los efectos antiinflamatorios, natriuréticos y antidiuréticos pueden atribuirse en parte, a la estimulación del receptor AT2, desenmascarado por el losartán.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio nos permiten afirmar que una dieta rica en sodio regula en más la expresión de eNOS y AQP1 endotelial de la pared vascular, sugiriendo la participación de la AQP1 en el transporte de NO a través de membrana celular. Además, éste es el primer estudio que describe que una dieta rica en sodio produce simultáneamente una temprana regulación en menos de eNOS en la capa media de aorta y de arterias pequeñas. Esta regulación en menos puede ser consecuencia del estrés oxidativo y/o el incremento en la presión arterial producido por la sobrecarga salina, ya que es prevenido por tempol y losartán.

El aumento del estrés oxidativo en respuesta al estiramiento de la pared vascular contribuye a desarrollar un fenotipo vascular asociado con hipertensión (activación de factores de transcripción pro-inflamatorios, activación de promotores del crecimiento MAP quinasas, regulación de mediadores pro-fibrogénicos y tono vascular alterada). Los resultados aportan a una mejor comprensión de la expresión de eNOS constitutiva en el músculo liso vascular y pueden contribuir al desarrollo de nuevas pautas terapéuticas para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Nuestros resultados muestran que los cambios en las células musculares lisas vasculares, así como el aumento de la presión arterial sistólica, se producen en la etapa inicial de una dieta con alto contenido de sal, considerada un factor de riesgo importante para la enfermedad cardiovascular.

Finalmente, nuestros resultados apoyan la idea de que la Ang II intrarrenal está estrechamente involucrada en la regulación en menos de eNOS intrarrenal cuando un exceso de sodio se incluye en la dieta. El bloqueo de los receptores AT1 por la administración de losartán o del estrés oxidativo por la administración de tempol, ejercen efectos beneficiosos sobre la hemodinamia renal, pues favorecen una mayor concentración urinaria de sodio y al mismo tiempo se ejerce un potente efecto natriurético. El presente estudio aporta una base para el desarrollo potencial de fármacos que restauren la menor expresión de eNOS, como una nueva estrategia para el tratamiento de la hipertensión arterial.

REFERENCIAS

1. Kruse E, Uehlein N, Kaldenhoff R. *The aquaporins. Genome Biol.* 2006; 7:206.
2. Echevarría M, Zardoya R. *Investigación y Ciencia.* 2006; p 60-67.
3. Verkman AS. *Aquaporins in Clinical Medicine. Annu Rev Med.* 2012; 63:303–16.
4. Takata K, Matsuzaki T, Tajika Y, Ablimit A, Hasegawa T. *Localization and trafficking of aquaporin 2 in the kidney. Histochem Cell Biol.* 2008; 130(2):197-209.
5. Wintour EM, Earnest L, Alcorn D, Butkus A, Shandley L, Jeyaseelan K. *Ovine AQP1: cDNA cloning, ontogeny, and control of renal gene expression. Pediatr Nephrol.* 1998; 12(7):545-53.

6. Herrera M, Garvin JL. *Aquaporins as gas channels*. Pflugers Arch. 2011; 462(4):623-30.
7. Herrera M, Garvin JL. *Novel role of AQP-1 in NO-dependent vasorelaxation*. Am J Physiol Renal Physiol. 2007; 292(5):F1443-51.
8. Shanahan CM, Connolly DL, Tyson KL, Cary NR, Osbourn JK, Agre P, Weissberg PL. *Aquaporin-1 is expressed by vascular smooth muscle cells and mediates rapid water transport across vascular cell membranes*. J Vasc Res. 1999; 36(5):353-62.
9. Stolarz-Skrzypek K, Kuznetsova T, Thijs L, Tikhonoff V, Seidlerová J, Richart T, Jin Y, Olszanecka A, Malyutina S, Casiglia E, Filipovský J, Kawecka-Jaszcz K, Nikitin Y, Staessen JA. *Fatal and nonfatal outcomes, incidence of hypertension, and blood pressure changes in relation to urinary sodium excretion*. European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) Investigators. JAMA. 2011 May 4;305(17):1777-85.
10. Baldo MP, Zaniqueli D, Forechi L, Machado RC, Rodrigues SL, Mill JG *Effects of spironolactone in spontaneously hypertensive adult rats subjected to high salt intake*. Clinics (Sao Paulo). 2011;66(3):477-82.
11. WHO Guidelines: *Sodium intake for adults and children*, 31 Jan 2013, Geneva.
12. Strazzullo P, D'Elia L, Cairella G, Scalfi L, Schiano di Cola M. *Recommending salt intake reduction to the hypertensive patient: more than just lip service*. High Blood Press Cardiovasc Prev. 2012; 19(2):59-64.
13. Stocker SD, Madden CJ, Sved AF. *Excess dietary salt intake alters the excitability of central sympathetic networks*. Physiol Behav. 2010; 100(5):519-24.
14. Kobori H, Nangaku M, Navar LG, Nishiyama A. *The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease*. Pharmacol Rev. 2007; 59(3):251-87.
15. Franco MC, Kawamoto EM, Gorjão R, Rastelli VM, Curi R, Scavone C, Sawaya AL, Fortes ZB, Sesso R. *Biomarkers of oxidative stress and antioxidant status in children born small for gestational age: evidence of lipid peroxidation*. Pediatr Res. 2007 Aug;62(2):204-8.
16. Li H, Weatherford ET, Davis DR, Keen HL, Grobe JL, Daugherty A, Cassis LA, Allen AM, Sigmund CD. *Renal Proximal Tubule Angiotensin AT1A Receptors Regulate Blood Pressure*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011; 301(4):R1067-77.
17. Touyz RM, Briones AM *Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension*. Hypertens Res. 2011; 34(1):5-14.
18. Förstermann U. *Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease*. Pflugers Arch. 2010;459(6):923-39. Geiszt M. *NADPH oxidases: new kids on the block*. Cardiovasc Res. 2006 Jul 15;71(2):289-99. Review.
19. Bedard K, Krause KH. *The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology*. Physiol Rev. 2007 Jan;87(1):245-313. Review.
20. Briones AM, Tabet F, Callera GE, Montezano AC, Yogi A, He Y, Quinn MT, Salaices M, Touyz RM. *Differential regulation of Nox1, Nox2 and Nox4 in vascular smooth muscle cells from WKY and SHR*. J Am Soc Hypertens. 2011 May-Jun;5(3):137-53.
21. Haque MZ, Majid DS. *High salt intake delayed angiotensin II-induced hypertension in mice with a genetic variant of NADPH oxidase*. Am J Hypertens. 2011; 24(1):114-8.
22. Grote K, Ortmann M, Salguero G, Doerries C, Landmesser U, Luchtefeld M, Brandes RP, Gwinner W, Tschernig T, Brabant EG, Klos A, Schaefer A, Drexler H, Schieffer B. *Critical role for p47phox in renin-angiotensin system activation and blood pressure regulation*. Cardiovasc Res. 2006 Aug 1;71(3):596-605.
23. Franco M, Martinez F, Rodriguez-Iturbe B, et al. *Angiotensin II, interstitial inflammation, and the pathogenesis of salt-sensitive hypertension*. Am J Physiol Renal Physiol. 2006; 291:F1281-F1287.
24. Cottone S, Mulè G, Guarneri M, Palermo A, Lorito MC, Riccobene R, Arsena R, Vaccaro F, Vadalà A, Nardi E, Cusimano P, Cerasola G. *Endothelin-1 and F2-isoprostane relate to and predict renal dysfunction in hypertensive patients*. Nephrol Dial Transplant. 2009 Feb;24(2):497-503
25. Brezis M, Heyman SN, Epstein FH. *Determinants of intrarenal oxygenation. II. Hemodynamic effects*. Am J Physiol. 1994; 267(6 Pt 2):F1063-8.
26. Swärd K, Valsson F, Sellgren J, Ricksten SE. *Differential effects of human atrial natriuretic peptide and furosemide on glomerular filtration rate and renal oxygen consumption in humans*. Intensive Care Med. 2005; 31(1):79-85.

27. Rosón MI, Cao G, Della Penna S, Gorzalczy S, Pandolfo M, Cerrudo C, Fernández BE, Toblli JE. *High Sodium Diet Promotes a Profibrogenic Reaction in Normal Rats Kidneys. Effects of Tempol Administration.* J Nephrol 2011; 24(1):119-27.
28. Rosón MI, Cao G, Della Penna S, Gorzalczy S, Pandolfo M, Medici C, Fernández BE, Toblli JE. *Sodium load combined with low doses of exogenous angiotensin II upregulate intrarenal angiotensin II.* Kidney Blood Press Res. 2009; 32(5):334-41.
29. Rosón MI, Cao G, Della Penna S, Gorzalczy S, Pandolfo M, Toblli JE, Fernández BE. *Angiotensin II increases intrarenal transforming growth factor-beta1 in rats submitted to sodium overload independently of blood pressure.* Hypertens Res. 2008; 31(4):707-15.
30. Rosón MI, Cavallero S, Della Penna S, Cao G, Gorzalczy S, Pandolfo M, Kuprewicz A, Canessa O, Toblli JE, Fernández B. *Acute sodium overload produces renal tubulointerstitial inflammation in normal rats.* Kidney Int. 2006; 70(8):1439-46.
31. Rosón MI, Toblli JE, Della Penna SL, Gorzalczy S, Pandolfo M, Cavallero S, Fernández BE. *Renal protective role of atrial natriuretic peptide in acute sodium overload-induced inflammatory response.* Am J Nephrol. 2006; 26(6):590-601.
32. Reusser M, McCarron DA. *Reducing hypertensive cardiovascular disease risk of African Americans with diet: focus on the facts.* J Nutr. 2006; 136:1099-102.
33. He FJ, Markandu ND, MacGregor GA. *Modest salt reduction lowers blood pressure in isolated systolic hypertension and combined hypertension.* Hypertension. 2005; 46:66-70.
34. Hansell P, Welch WJ, Blantz RC, Palm F. *Determinants of kidney oxygen consumption and their relationship to tissue oxygen tension in diabetes and hypertension.* Clin Exp Pharmacol Physiol. 2013; 40(2):123-37.
35. Müller-Ladner U, Gay RE, Gay S. *Role of nuclear factor kappaB in synovial inflammation.* Curr Rheumatol Rep. 2002; 4(3):201-7.
36. Wolf G. *Role of reactive oxygen species in angiotensin II-mediated renal growth, differentiation, and apoptosis.* Antioxid Redox Signal. 2005; 7:1337-1345.
37. Bader M, Ganten D. *Update on tissue renin-angiotensin systems.* J Mol Med. 2008; 86:615-62.
38. Li XC, Hopfer U, Zhuo JL. *AT1 receptor-mediated uptake of angiotensin II and NHE-3 expression in proximal tubule cells through a microtubule-dependent endocytic pathway.* Am J Physiol Renal Physiol. 2009; 297(5):F1342-52.
39. Quan A, Baum M. *Regulation of proximal tubule transport by endogenously produced angiotensin II.* Nephron. 2000; 84(2):103-10.
40. Prieto MC, Navar LG. *Collecting duct renin a critical link in angiotensin II: dependent hypertension.* In: Frohlich ED, Re R, editors. *The local renin-angiotensin aldosterone system.* New York: Springer; 2009. pp. 133–141.
41. Hakam AC, Hussain T. *Angiotensin II type 2 receptor agonist directly inhibits proximal tubule sodium pump activity in obese but not in lean Zucker rats.* Hypertension. 2006; 47(6):1117-24.
42. Adler S, Huang H. *Oxidant stress in kidneys of spontaneously hypertensive rats involves both oxidase overexpression and loss of extracellular superoxide dismutase.* Am J Physiol Renal Physiol. 2004; 287(5):F907-13.
43. Thomas F Lüscher *Endothelial dysfunction: the role and impact of the renin-angiotensin system.* Heart. 2000; 84:i20-i22.
44. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Jothianandan D. *Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries.* J Cardiovasc Pharmacol. 1984;6 Suppl 2:S336-43. Review.
45. Ignarro L.J. Nitric oxide. *A novel signal transduction mechanism for transcellular communication.* Hypertension. 1990;16(5):477-83. Review.
46. Bredt DS, Snyder SH. *Nitric oxide: a physiologic messenger molecule.* Annu Rev Biochem. 1994;63:175-95. Review. No abstract available.
47. Tsutsui M, Shimokawa H, Otsuji Y, Ueta Y, Sasaguri Y, Yanagihara N. *Nitric oxide synthases and cardiovascular diseases: insights from genetically modified mice.* Circ J. 2009;73(6):986-93. Review.
48. Park CS, Park R, Krishna G. *Constitutive expression and structural diversity of inducible isoform of nitric oxide synthase in human tissues.* Life Sci. 1996;59(3):219-25.
49. Buchwalow IB, Podzuweit T, Bocker W, SamoiloVA VE, Thomas S, Wellner M, Baba HA, Robenek H, Schnekenburger J, Lerch MM. *Vascular smooth muscle and nitric oxide synthase.* FASEB J. 2002; 16(6):500-8.

50. Morishita T1, Tsutsui M, Shimokawa H, Horiuchi M, Tanimoto A, Suda O, Tasaki H, Huang PL, Sasaguri Y, Yanagihara N, Nakashima Y. *Vasculoprotective roles of neuronal nitric oxide synthase*.FASEB J. 2002;16(14):1994-6.
51. Nakata S, Tsutsui M, Shimokawa H, Yamashita T, Tanimoto A, Tasaki H, Ozumi K, Sabanai K, Morishita T, Suda O, Hirano H, Sasaguri Y, Nakashima Y, Yanagihara N. *Statin treatment upregulates vascular neuronal nitric oxide synthase through Akt/NF-kappaB pathway*.Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27(1):92-8.
52. Dickinson KM1, Clifton PM, Keogh JB. *Endothelial function is impaired after a high-salt meal in healthy subjects*.Am J Clin Nutr. 2011;93(3):500-5.
53. Todd AS, Macginley RJ, Schollum JB, Johnson RJ, Williams SM, Sutherland WH, Mann JI, Walker RJ. *Dietary salt loading impairs arterial vascular reactivity*. Am J Clin Nutr. 2010;91(3):557-64.
54. Kagota S, Tamashiro A, Yamaguchi Y, Nakamura K, Kunitomo M. *High salt intake impairs vascular nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate system in spontaneously hypertensive rats*.J Pharmacol Exp Ther. 2002;302(1):344-51.
55. Cheah LS, Gwee M, Das R, Ballard H, Yang YF, Daniel EE, Kwan CY. *Evidence for the existence of a constitutive nitric oxide synthase in vascular smooth muscle*. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2002; 29(8):725-7. Review.
56. Buchwalow IB, Podzuweit T, SamoiloVA VE, Wellner M, Haller H, Grote S, Aleth S, Boecker W, Schmitz W, Neumann J. *An in situ evidence for autocrine function of NO in the vasculature*. Nitric Oxide. 2004; 10(4):203-12.
57. Charpie JR, Webb RC. *Vascular myocyte-derived nitric oxide is an autocrine that limits vasoconstriction*. Biochem Biophys Res Commun. 1993; 194(2):763-8.
58. White SJ, Hayes EM, Lehoux S, Jeremy JY, Horrovoets AJ, Newby AC. *Characterization of the differential response of endothelial cells exposed to normal and elevated laminar shear stress*. J Cell Physiol. 2011; 226(11):2841-8.
59. Lu D, Kassab GS *Role of shear stress and stretch in vascular mechanobiology*. J R Soc Interface. 2011;8(63):1379-85.
60. Haga JH, Li YS, Chien S. *Molecular basis of the effects of mechanical stretch on vascular smooth muscle cells*.J Biomech. 2007; 40(5):947-60.
61. Anwar MA, Shalhoub J, Lim CS, Gohel MS, Davies AH. *The effect of pressure-induced mechanical stretch on vascular wall differential gene expression*. J Vasc Res. 2012; 49(6):463-78.
62. Mount PF, Power DA: *Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis*. Acta Physiol (Oxf) 2006, 187(4):433–446.
63. Zoccali C: *The endothelium as a target in renal diseases*. J Nephrol 2007, 20(Suppl 12):S39–S44 27,28.
64. Lahera V, Salom MG, Miranda-Guardiola F, Moncada S, Romero JC: *Effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure*. Am J Physiol 1991, 261(6 Pt 2):F1033–F1037.
65. Shultz PJ, Tolins JP: *Adaptation to increased dietary salt intake in the rat. Role of endogenous nitric oxide*. J Clin Invest 1993, 91(2):642–650.
66. Cacanyiova S, Dovinova I, Kristek F. *The role of oxidative stress in acetylcholine-induced relaxation of endothelium-denuded arteries*. J Physiol Pharmacol. 2013;64(2):241-7.
67. Yildirim E, Baydan E, Kanbur M, Kul O, Cinar M, Ekici H, Atmaca N. *The effect of chlorpyrifos on isolated thoracic aortain rats*. Biomed Res Int. 2013; 2013:376051.
68. Thacher T, Gambillara V, da Silva RF, Silacci P, Stergiopoulos N. *Reduced cyclic stretch, endothelial dysfunction, and oxidative stress: an ex vivo model*. Cardiovasc Pathol. 2010; 19(4):e91-8.
69. Lehoux S. *Redox signalling in vascular responses to shear and stretch*. Cardiovasc Res. 2006; 71(2): 269-79.
70. Castier Y, Brandes RP, Leseche G, Tedgui A, Lehoux S. *p47phox-dependent NADPH oxidase regulates flow-induced vascular remodeling*. Circ Res. 2005; 97(6):533-40.
71. Yamashita T, Sakamoto K, Yamanishi H, Totani N, Yamamoto J. *Effect of a free radical scavenger on nitric oxide release in microvessels*. Vascul Pharmacol. 2013 Jan; 58(1-2):134.
72. Strålin P, Karlsson K, Johansson BO, Marklund SL. *The interstitium of the human arterial wall contains very large amounts of extracellular superoxide dismutase*. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995; 15(11): 2032-6.
73. Briones, A.M., Alonso, M.J., Hernanz, R., Miguel, M., Salices, M. *Alterations of the nitric oxide pathway in cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats*. Journal of Cardiovascular Pharmacology 2002; 39, 378–388
74. Liu, H., Kitazato, K.T., Uno, M., Yagi, K., Kanematsu, Y., Tamura, T., Tada, Y., Kinouchi, T., Nagahiro, S., 2008. *Protective mechanisms of the angiotensinII type 1 receptor blocker candesartan against cerebral ischemia: in vivo and in vitro studies*. Journal of Hypertension 26, 1435–1445.

75. Mc Donough AA. *Mechanisms of proximal tubule sodium transport regulation that link extracellular fluid volume and blood pressure.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010; 298: R851–R86.
76. Hasler U, Leroy V, Martin PY, Féraille E. *Aquaporin-2 abundance in the renal collecting duct: new insights from cultured cell models.* Am J Physiol Renal Physiol. 2009; 297(1):F10-8.
77. Sabuhi R, Asghar M, Hussain T. *Inhibition of NAD(P)H oxidase potentiates AT2 receptor agonist-induced natriuresis in Sprague-Dawley rats.* Am J Physiol Renal Physiol. 2010; 299(4):F815-20.
78. Boone M, Kortenoeven M, Robben JH, Deen PM. *Effect of the cGMP pathway on AQP2 expression and translocation: potential implications for nephrogenic diabetes insipidus.* Nephrol Dial Transplant. 2010; 25(1):48-54.
79. Bouley R, Palomino Z, Tang SS, Nunes P, Kobori H, Lu HA, Shum WW, Sabolic I, Brown D, Ingelfinger JR, Jung FF. *Angiotensin II and hypertonicity modulate proximal tubular aquaporin 1 expression.* Am J Physiol Renal Physiol 2009; 297(6):F1575-86.
80. Chandramohan G, Bai Y, Norris K, Rodriguez-Iturbe B, Vaziri ND. *Effects of dietary salt on intrarenal angiotensin system, NAD(P)H oxidase, COX-2, MCP-1 and PAI-1 expressions and NF-kappaB activity in salt-sensitive and -resistant rat kidneys.* Am J Nephrol. 2008; 28(1):158-67.
81. Fan YY, Baba R, Nagai Y, Miyatake A, Hosomi N, Kimura S, Sun GP, Kohno M, Fujita M, Abe Y, Nishiyama A. *Augmentation of intrarenal angiotensin II levels in uninephrectomized aldosterone/salt-treated hypertensive rats; renoprotective effects of an ultrahigh dose of olmesartan.* Hypertens Res. 2006; 29(3):169-78.
82. Susic D, Frohlich ED. *Salt consumption and cardiovascular, renal, and hypertensive diseases: clinical and mechanistic aspects.* Curr Opin Lipidol. 2012; 23(1):11-6.
83. Gonzalez M, Lobos L, Castillo F, Galleguillos L, Lopez NC, Michea L *High-salt diet inhibits expression of angiotensin type 2 receptor in resistance arteries.* Hypertension. 2005; 45(5):853-9.
84. Fox J, Guan S, Hymel AA, Navar LG. *Dietary Na and ACE inhibition effects on renal tissue angiotensin I and II and ACE activity in rats.* Am J Physiol. 1992; 262(5 Pt 2):F902-9.
85. Zhou A, Carrell RW, Murphy MP, Wei Z, Yan Y, Stanley PL, Stein PE, Broughton Pipkin F, Read RJ. *A redox switch in angiotensinogen modulates angiotensin release.* Nature. 2010; 468(7320):108-11.
86. Lara LS, McCormack M, Semprum-Prieto LC, Shenouda S, Majid DS, Kobori H, Navar LG, Prieto MC. *AT1 receptor-mediated augmentation of angiotensinogen, oxidative stress, and inflammation in ANG II-salt hypertension.* Am J Physiol Renal Physiol. 2012; 302(1):F85-94.
87. Navar LG, Prieto MC, Satou R, Kobori H. *Intrarenal angiotensin II and its contribution to the genesis of chronic hypertension.* Curr Opin Pharmacol. 2011; 11(2):180-6.
88. Matavelli LC, Huang J, Siragy HM. *Angiotensin AT₂ receptor stimulation inhibits early renal inflammation in renovascular hypertension.* Hypertension. 2011; 57(2):308-13.
89. Cao CS, Yin Q, Huang L, Zhan Z, Yang JB, Xiong HW. *Effect of angiotensin II on the expression of aquaporin 1 in lung of rats following acute lung injury.* Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue; 2010; 22(7):426-9.
90. Jensen AM, Li C, Praetorius HA, Nørregaard R, Frische S, Knepper MA, Nielsen S, Frøkiaer J. *Angiotensin II mediates downregulation of aquaporin water channels and key renal sodium transporters in response to urinary tract obstruction.* Am J Physiol Renal Physiol 2006; 291(5):F1021-32.
91. Wilcox CS, Pearlman A. *Chemistry and antihypertensive effects of tempol and other nitroxides.* Pharmacol Rev. 2008; 60(4): 418-69.
92. Silva GB, Garvin JL. *Rac1 mediates NaCl-induced superoxide generation in the thick ascending limb.* Am J Physiol Renal Physiol. 2010; 298(2):F42.
93. Silva GB, Ortiz PA, Hong NJ, Garvin JL. *Superoxide stimulates NaCl absorption in the thick ascending limb via activation of protein kinase C.* Hypertension. 2006; 48:467-472.
94. Bayorh MA, Mann G, Walton M, Eatman D. *Effects of enalapril, tempol, and eplerenone on salt-induced hypertension in Dahl salt-sensitive rats.* Clin Exp Hypertens. 2006; 28(2):121-32.
95. Bayorh MA, Ganafa AA, Socci RR, Silvestrov N, Abukhalaf IK. *The role of oxidative stress in salt-induced hypertension.* Am J Hypertens. 2004; 17:31-36.

premio Francisco Cignoli 2013

**CONSIDERACIONES RELATIVAS A LOS CÓDEX JESUÍTICOS Y A LAS PLANTAS
AUTÓCTONAS AMERICANAS DE USO MEDICINAL**

Prof. Ana María Perkins

EL ENCUENTRO DE DOS CULTURAS

El territorio que hoy comprende el nordeste de la República Argentina, una vasta región del Paraguay y el Sur de Brasil, estaba habitado a mediados del siglo XV, por una constelación de pueblos indígenas de orígenes, lenguas, religiones y sistemas socioeconómicos diferentes. Los tupí-guaraníes se diferenciaban de otros grupos étnicos, básicamente cazadores y recolectores, por su cultura agrícola. Su mitología religiosa les permitía vivir en armonía con su entorno natural. Por ello, cuando los misioneros religiosos llegaron, los guaraníes no tuvieron dificultad en combinar las dos religiones. Aprendieron sobre la base de un gran poder de observación, a servirse de la flora y de la fauna autóctona en provecho de su pueblo. Moisés Bertoni menciona que distinguieron alrededor de 1100 especies de plantas y conocieron las propiedades curativas de muchas de ellas.

Contemporáneamente a esta civilización americana, el 15 de Agosto de 1534, en Montmartre, Paris, Ignacio de Loyola fundaba la Compañía de Jesús, aprobada el 27 de septiembre de 1540 por el Papa Pablo III, sin imaginar lo que significaría esta orden religiosa para la humanidad, ya que poseían una fuerza inagotable en obtener sus propósitos de conversión y educación. Comenzando su misión en América, los primeros jesuitas llegaron a Perú en 1566 y se lanzaron a una gigantesca tarea evangelizadora en los territorios del Paraguay actual, centro y nordeste argentino, -correspondiente a las provincias de Misiones, Corrientes y Córdoba-, así como al Sur de Brasil, en lo que hoy corresponde a Río do Sul.

Los jesuitas aprendieron a hablar el idioma guaraní a la perfección y en ningún momento intentaron imponer la lengua española, hecho que facilitó a la Orden extender rápidamente las Reducciones o Misiones. En la Reducción jesuítica fue dónde se realizó una experiencia única en el mundo, calificada por muchos como una epopeya que a diferencia de las reducciones de otras órdenes religiosas, no empleaba coerción que obligara a los nativos a hacer algo en contra de su voluntad, sino más bien, con un manejo hábil, se les ayudaba a organizarse en una vida comunitaria productiva y a doblegar la indolencia natural de estos aborígenes en provecho de ellos mismos. No discutieron en general las jerarquías y costumbres ancestrales de estos pueblos originarios, por el contrario, trataron de comprenderlas y participar de ellas.

Las Misiones o Reducciones jesuíticas tupi-guaraníes, se iniciaron formalmente en 1610 y si bien se contó con los misioneros suficientes y los medios indispensables con que llevar a cabo su fundación, no se registraron en sus comienzos, Padres Jesuitas enfermeros, ni médicos, ni boticarios, ya que los naturales de estas tierras eran sumamente sanos y fuertes en su hábitat natural selvático, siendo afectados apenas por dolencias leves y pasajeras, muriendo generalmente de vejez.

Sin embargo, luego tuvieron que enfrentar el problema del tratamiento de enfermedades de distinta etiología, pues los indígenas se enfermaban con facilidad reunidos en pueblos al no estar acostumbrados a ello, lo que permitió que los aborígenes se contagiaran de diversas enfermedades desconocidas, que fueron introducidas por los conquistadores. Por lo tanto, los religiosos con más buena voluntad que conocimientos adecuados, prestaban especial atención y cuidado de los enfermos para alivio de sus males.

Así podemos citar a los religiosos Roque González de Santa Cruz, Antonio Ruíz de Montoya, Pedro Romero, Francisco Díaz Taño, Diego de Boroa, José Cataldino, Vicente Griffi, Claudio Roiyer, Blas Gutiérrez y Cristóbal Altamirano, algunos de ellos mencionados como Padres fundadores de las Reducciones. También se podrían mencionar otros de menor notoriedad, pero todos en general, si bien no eran médicos, ni entendían de medicina actuaron como “sanadores”, situación que se mantuvo durante el siglo XVII en las Reducciones, con las limitaciones que se expresan en los privilegios de la Compañía, según refiere el Dr. Francisco Cignoli.

Entre las medidas tomadas para consolidar la posición de aquellos religiosos en las Reducciones, se dictó en 1576 la siguiente ordenanza apostólica, especialmente destinada a las Indias: ... *“Los religiosos de la Compañía, peritos en medicina, pueden con permiso de sus superiores curar sin escrúpulo a cualquier persona enferma, fuera de los casos en que haya de hacerse quemadura o incisión, particularmente en los países donde haya penuria de médicos. Pero habiéndolo necesidad, cualquiera podrá quemar y cortar”*.

Entre 1641 y 1643, una peste asoló a los pueblos de las Reducciones, según relatan las Annuas de esos años. Para ese entonces, los Padres Misioneros que sangraban a los indios y los curaban de sus enfermedades, ya habían adiestrado a los mismos indígenas para que hicieran de enfermeros en estos casos. Aunque ya dijimos que los primeros jesuitas no tenían grandes conocimientos de medicina, hay expresas menciones en diversos manuscritos, que dan cuenta del éxito obtenido en aplacar distintas epidemias, así como del efecto saludable de las medicinas que prescribían. En 1632, los Misioneros solicitaron del General de la Compañía que les enviara un Padre que *“entienda algo de botica, medicinas, barbería y enfermería, y que estuviera siempre a disposición del superior de dichas Reducciones, para mudarles de una Reducción a otra, como juzgare convenir”*.

A fines del siglo XVII, cada uno de los pueblos misioneros tenía su hospital y sus enfermeros, pero fue recién a comienzos del siglo XVIII que provenientes de España, Italia, Alemania, Austria y Hungría, arribaron médicos y herbolarios profesionales; el Padre Altamirano fue el primero en montar y organizar en Candelaria, que a la sazón era la más importante de todas las Reducciones, una botica que sirviera para todas ellas; sucediéndose luego muchas otras.

La orden Jesuita siempre se caracterizó por poseer una mente amplia y abierta, tal es así que hacia fines del siglo XVII, hubo numerosos herboristas que aunaron los conocimientos traídos de su tierra de origen al de los nativos; estos últimos tenían grandes conocimientos empíricos sobre el uso terapéutico de las cuantiosas plantas que crecían en estas frondosas tierras, donde la naturaleza se brindaba tan pródiga, siendo poseedores de una importante y amplia **Farmacopea Natural**. Las importantísimas obras escritas generalmente mientras los religiosos servían en las Misiones, mencionan las aplicaciones fito-terapéuticas de los naturales, que luego pasarían a ser aplicadas en ciudades como Córdoba y Santa María de Buenos Ayres, así como en el continente europeo, formando parte de Códex posteriores, lo cual fue muy práctico y provechoso para la salud de las poblaciones.

Ya en la mitad del siglo XVIII, debió ser grande el prestigio de los médicos y herboristas jesuitas que atendían a los indios de las Misiones guaraníes. Existen crónicas que mencionan que numerosos españoles y criollos, se trasladaban desde las ciudades a las Misiones, para ser atendidos por estos maestros en el arte de curar. Confirma este hecho el que a diferencia de las boticas de los Colegios de las grandes ciudades como las de Córdoba y las de Santa María de Buenos Ayres, sumamente prestigiosas por contener muchas medicinas traídas de Europa, las de las Misiones se aprovisionaban principalmente de las plantas nativas que en forma tan rica y variada se reproducían en estas regiones, ya que las medicinas europeas eran escasas y demoraban mucho tiempo en llegar.

Según expresa el Padre Furlong, cito: ... **“no parece que botica alguna de Buenos Ayres tuviera a mediados del siglo XVIII el prestigio que tenía la del Colegio ...”**, como era llamada por los habitantes de la ciudad, -ubicada en la *Manzana de las Luces*, compartía con el Colegio de San Ignacio el solar de la actual calle Alsina y la avenida Diagonal Sur-.

Los médicos y farmacéuticos jesuitas, conocedores del saber de su época, se enriquecieron al aceptar la experiencia aborígen incorporando los conocimientos botánicos y terapéuticos que éstos poseían. De hecho la **farmacopea misionera** fue el resultado de la yuxtaposición de la del Viejo Mundo con la del Nuevo Mundo. Es indudable que ésto fue el resultado del encuentro de culturas muy distintas, sabiamente amalgamadas por estos hábiles religiosos.

Códices y Herbarios Misioneros

Para la presente investigación se consultaron escritos y apuntes que realizaron importantes Hermanos de la orden Jesuita en los siglos XVII y XVIII o copias que se hicieron de ellos, donde indicaban las variedades botánicas observadas y el uso que los nativos americanos hacían de ellas, los cuales se han constituido a través del tiempo en una valiosa fuente de información.

Desde los primeros tiempos de su permanencia en América, los jesuitas de las Misiones dedicaron una gran parte de su vasta y fecunda labor al estudio y recolección de plantas vernáculas estableciendo sus vinculaciones con la medicina. Si bien su misión en América se hizo con el propósito de conquistar almas para la fe cristiana, realizaron a la par una inmensa labor científica, aportando datos invaluable para el conocimiento de la historia y ciencia de la flora y fauna del continente. Son muchos los ilustres religiosos que inscribieron su nombre en la historia de la botánica americana: Buenaventura Suárez, Bernardo Nudendorffer, Pedro Lozano, José Guevara, Martín Dobrizhoffer, Pedro Montenegro, Sánchez Labrador, y Segismundo Asperger entre otros; lamentablemente aún hoy, se desconoce donde se encuentran muchos de sus manuscritos originales, aunque en algunos casos se dispone de copias realizadas por terceros, desconociéndose por lo general si son fieles o no a los originales.

Por las referencias de los viajeros, cronistas e historiadores y en cierto modo, por el secreto que de ellos se guardaba, fueron los *Herbarios de las plantas medicinales de las misiones*, que en distintas épocas habían reunido y escrito los jesuitas, obras de consulta permanente. Pero con el tiempo se descubrieron copias de estos herbarios, existentes en diversos lugares. Así el padre Lozano da como autor de uno de ellos al Hermano Pedro Montenegro; Azara menciona y traduce del latín los escritos de Segismundo Asperger; Damersay ubica un manuscrito del mismo Montenegro en poder de Pedro Ferré en Uruguay, hace mención de otro *herbario* de un padre Sigismundi -que según Arata no puede ser otro que el padre Segismundo Asperger- y hace referencia a un **Arbol de la vida**, manuscrito de plantas, fechado en 1735, propiedad de E. de Sylva Maia, de Río de Janeiro y Martín Spuch nos habla de un código titulado **Libro compuesto por el hermano Montenegro, de la Compañía de Jesús**, fechado en 1711.

Por todas estas referencias y muchas otras, se creyó equivocadamente por cierto, en la existencia de distintos *herbarios misioneros*. Este criterio subsistió hasta que Pedro N. Arata, en un notable estudio publicado en La Biblioteca en el año 1898, estableció la existencia de **un solo herbario**, y dedujo que las diversas copias conocidas, algunas profusamente aumentadas o transformadas, tenían un origen común.

En la investigación que le permite arribar a estas conclusiones, Arata confrontó cuatro manuscritos distintos: uno anónimo, fechado el 3 de mayo de 1790 en el pueblo de San Angel

pueblo de las misiones jesuíticas de la Provincia del Paraguay, situado a orillas del río Yui-; otro cuyo autor es el padre Asperger, en una copia hecha en 1872 y que poseía Juan María Gutiérrez; un tercer manuscrito que perteneció a Juan José Montes de Oca, titulado ***Plantas de Misiones***, también de autor anónimo y, por último, el del Hermano Pedro Montenegro –***Materia Médica Misionera***–, que se conserva en la Biblioteca Nacional de Buenos Aires, Sector Reservados.

De su confrontación, cuidadosamente efectuada por Arata, surge con evidencia que el manuscrito anónimo, el fechado en San Ángel, el del padre Asperger y el titulado *Plantas de Misiones*, son todos ellos copia del códice del Hermano Montenegro. Establecida la enorme importancia de esta obra, como fuente de otras que le sucedieron, a su vez Arata se pregunta si el hermano Montenegro ha sido el autor primitivo de ella. Cree encontrar la respuesta en el Padre José Guevara, cronista de la orden jesuítica, quien al referirse en su *Historia de la Conquista*, a una serie de plantas que le fueron comunicadas por el padre Bernardo Nusdorffer, indica: ... *su autor es el padre P. Ventura Suárez...* De ello deduce que fue este jesuita el primero que realizó estudios sobre plantas en las misiones.

Sea justificada o no esta reivindicación histórica que coloca al padre Suárez como precursor en esta clase de trabajos botánicos, el hecho es que el mérito del hermano Pedro Montenegro no disminuye, ya que resume todo lo que en botánica médica, habían compuesto sus predecesores. Su obra está sostenida por un prestigio científico propio indiscutible como lo expresaran tantos ilustres de la época como el padre Lozano y el Padre José Sánchez Labrador, quien expresó: *Entre todos sobresale el hermano Pedro Montenegro, cuyo estudio fue continuo en la Botánica Farmacéutica, Medicina y Cirugía ára bien de las gentes del Paraguay y singularmente de los indios.....* Es poco menos que imposible, según la opinión del Padre Furlong, que un extranjero a los pocos años de llegar al país, pudiera sin contar con antecedentes, componer tan magnífica obra.

Herboristas jesuitas en el siglo XVII y XVIII en la Provincia del Paraguay

El jesuita Buenaventura Suárez, fue peritísimo herbolario, a quien el Padre Guevara le atribuye un ***Indice Alfabético-Histórico-Médico, de las raíces, árboles y plantas medicinales que se encuentran en estas provincias***. El Padre Suárez, sobresalió asimismo como el precursor de la astronomía argentina, fabricando sus propios instrumentos y el primer telescopio americano, fue también el primero en levantar un observatorio en estas regiones del Nuevo Mundo y el primero en realizar observaciones científicas luego utilizadas en Europa. El Hermano Domingo Torres, afanoso herborista, fallecido en 1688 en Apóstoles, provincia de Misiones, a su vez confeccionó una lista de medicamentos.

Los botánicos más insignes en el decurso del siglo XVII fueron José Sánchez Labrador y Gaspar Juárez, español peninsular el primero de ellos y americano el segundo, siendo ambos incansables en el conocimiento de las numerosas especies vegetales y sus virtudes terapéuticas, según testimonian sus numerosas obras.

No podemos dejar de citar la máxima obra de José Sánchez Labrador, ***El Paraguay Natural***, la cual consta de diez volúmenes sobre flora y fauna. En ella destinó: 558 páginas de densa lectura a las Tierras, Aguas y Aires; 500 páginas a la botánica; 422 a los animales mamíferos, aves y peces; 373 a los animales anfibios, reptiles, insectos, y otros; 896 páginas en cuatro tomos sobre agricultura, arboricultura, horticultura y jardinería. Estos manuscritos además se hallan enriquecidos con dibujos sobre plantas y animales para mejor ilustración de su obra. De la lectura de este trabajo surge el convencimiento de que Sánchez Labrador ha sido un hombre de extraordinaria capacidad y notable erudición, y que sin ser médico, poseía una cultura poco común para la época.

El Hermano Pedro Montenegro, es sin duda, el más grande de los médicos cirujanos que actuaron en las reducciones guaraníes en la primera mitad del siglo XVIII. Oriundo de Galicia, nacido en 1663, en su juventud actuó en el Hospital General de Madrid, llegando en 1702 a las Misiones guaraníes, y al año siguiente, se radicó en el pueblo de Apóstoles. Fue él quien en ese año convirtió a esta Reducción en el gran Centro Médico misionero, falleciendo en el año 1728. Fue médico general o protomédico en las Reducciones del Paraná y son numerosas e importantísimas las obras que se le atribuyen, como ser su famoso **Libro de Cirugía**, erróneamente atribuido al franciscano Pacheco, según refiere el Dr. Cignoli, así como un valiosísimo trabajo sobre las virtudes de la *yerba mate o yerba del Paraguay*, que hoy en día sigue siendo consultado, y su **Recetario Médico ó Materia Médica Misionera**.

Según el testimonio del Padre José Sánchez Labrador acerca de los talentos y habilidades profesionales del Hermano Montenegro, escribe: “...quien deseara informarse más por entero de las enfermedades en particular, que son frecuentes en estos países, podría satisfacer su curiosidad leyendo varios opúsculos manuscritos que andan en manos de todos. Sus autores han sido misioneros jesuitas, muy inteligentes en medicina, especialmente hermanos coadjutores que la estudiaron y practicaron antes de tomar el estado religioso. Entre todos sobresale el Hermano Pedro Montenegro, cuyo estudio fue continuo en la Botánica Farmacéutica, Medicina y Cirugía, para bien de la gente del Paraguay y singularmente de los indios, en el idioma guaraní compuso algunos libros, y otros en español”.

Materia Médica Misionera es un códice en 4º, de 458 páginas ilustradas, con 136 láminas, hermosamente dibujadas a pluma y tinta china. En la portada hay una estampa de Nuestra Señora de los Dolores, patrona de los enfermos, y al pie la fecha “Año de 1710”. Las tres primeras partes se refieren a la nomenclatura botánica, a las propiedades de las plantas, al tiempo de recogerlas y conservarlas, sus virtudes curativas y cómo aprovechar las mismas. Toda la cuarta parte es un estudio médico de las enfermedades que son curadas mediante yerbas, raíces y cortezas. En su obra, el padre Montenegro describe las características botánicas de numerosas plantas autóctonas, su semejanza en algunos casos con las especies europeas, sus virtudes terapéuticas y como prepararlas para así obtener la curación eficaz a diferentes males; sus preciosos dibujos, ilustran a la par que enriquecen esta ardua e invaluable obra.

Hasta tanto no se descubra algún manuscrito semejante de fecha anterior a 1710, será de justicia considerar al Padre Pedro Montenegro j.s. como autor del primer herbolario o **Materia Médica Misionera** que sirvió de patrón a las diversas copias que más tarde se hicieron y que circularon en diversos Conventos, Colegios y Misiones para uso de los religiosos, a fin de ser utilizados en sus prácticas médicas y preparados medicinales.

El Padre Segismundo Asperger, de origen austríaco, natural de Innsbruck, nacido en el año 1687, entra en la Compañía de Jesús y profesa en el año 1726. Poco tiempo después llega al Paraguay como misionero y médico herborista, a desarrollar en tierras tan fecundas sus condiciones de observador sobresaliente, ocupándose del estudio botánico de numerosas plantas medicinales de estas regiones, entre otras de la Quina y sus variedades. Vivió en América hasta el fin de sus días y cuando se lleva a cabo la expulsión de los jesuitas en el año 1767, fue dejado, en atención a la enfermedad que lo aquejaba y a su avanzada edad, en la población de Apóstoles donde se cree que falleció a la edad de 112 años.

Martín Dobrizhoffer, quien fue compañero de Asperger, y trabajó en las Reducciones de los guaraníes, alemán nacido en Friedberg en 1718, al culminar sus estudios humanísticos ingresa a la

Compañía de Jesús. Cuando en 1747 pidió y obtuvo pasar a las misiones americanas, no era aún sacerdote. Al llegar permaneció 4 años entre los indios Mocobíes de Santa Fe que constituían una barrera infranqueable entre esa provincia y el Chaco. Luego pasó a actuar a la región del pueblo de Avipones, pueblo sumamente belicoso que asolaba y atemorizaba a las poblaciones circundantes. A su llegada es recibido por el párroco quien era el padre José Sánchez Labrador. Ardua y valiente es la labor que realizan los jesuitas en este indomable pueblo; durante su permanencia de 18 años en la región, Dobrizhoffer comienza a escribir una valiosísima obra titulada **Historia de los Avipones** que termina y publica cuando regresa a Austria.

La obra consiste en tres tomos, donde el tomo I versa sobre el Paraguay en general, su historia pasada y el estado en que se hallaba a fines del siglo XVIII; en los tomos II y III se refiere exclusivamente a los indios Avipones. En el tomo I escribe sobre numerosas plantas características de la zona de *Paracuaria*; las describe brevemente y apenas indica en cada una algún uso medicinal de ellas, pues como él mismo expresa cuando habla del Palo Santo, cito: *...no indicaré aquí en que otras enfermedades puede ser útil porque no es asunto mío...*

En su obra Dobrizhoffer describe una serie de plantas, en el siguiente orden: Quina o Corteza Peruana, Ruibarbo, Raíz Jalapa, Mechoacán, Sasafrás, Palo Santo, Guayacán, Sangre de Dragón, Cupay, Cacao, Tamarindo, Algarroba o Siliqua Graeca, y Virga Aurea. Su obra original escrita en latín se encuentra en el sector Tesoro de la Biblioteca Nacional y su traducción castellana en el Museo Etnográfico de Buenos Aires, Argentina.

Estudio comparativo entre **Materia Médica Misionera** y el **Códex de Segismundo Asperger**

En el curso de la presente investigación, con el fin de comprobar las aseveraciones de Félix de Azara en cuanto a la existencia de un solo herbario que dio origen a posteriores Códex, se comparó **Materia Médica Misionera** del Hermano Pedro Montenegro, editada en el año 1945 en forma completa y fiel por la Biblioteca Nacional Argentina, con la copia traducida del latín de la obra de Segismundo Asperger realizada por Félix de Azara y que tituló **Apuntes de varias cosas tendientes a esta provincia (del Paraguay) sacadas del P. S. Asperger exjesuita de esas Misiones del Uruguay y Félix de Azara Año 1867**, existente en el Archivo General de la Nación. Fotos 4, 5 y 6.

De ello surge que en la obra de Asperger no se observan dibujos, además la ha dividido en dos partes:

1. *Capítulo 1º comienza la página 1 con las virtudes del Cacao y el*
2. *Libro Segundo Delas Yervas y Raices Medicinales y comestibles destas Misiones y Paraguay con algunas del Brasil y Provincia de Chile.*

Se observa que el contenido de cada una de las plantas que describe Asperger es una copia exacta de lo que figura en el manuscrito del Padre Montenegro, encontrándose en la mayoría de los casos incompleta la información, ya que a veces transcribe solo lo que figura como virtudes en **Materia Médica Misionera** y en otros casos copia íntegra la información sobre el vegetal correspondiente.

Además Asperger ha cambiado el orden en que se describen las plantas ya que comienza su manuscrito con un *Proemio* al que le sigue la descripción de *Las Virtudes del Cacao*, mientras que el Hermano Montenegro comienza su obra con una *Dedicatoria a la Serenísima Reina de los Siete Dolores*, un *Prólogo al lector*, *El modo de recoger las plantas, a que tiempo, y circunstancias*, a la que

ANEXO

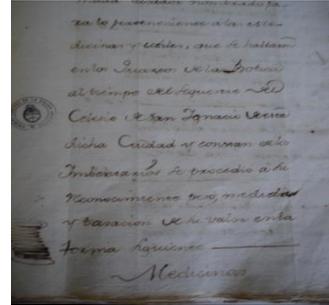
FOTOS



N° 1



N° 2



N° 3

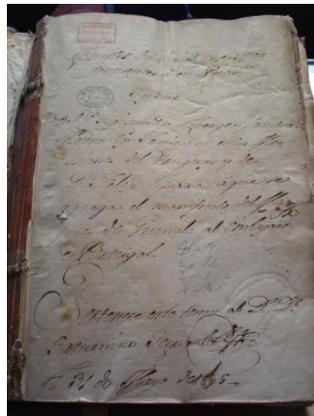
N° 1: Se observa la identificación del Archivo General de la Nación de los documentos correspondientes a la División Colonia, Sección Gobierno, Buenos Aires, Colegio de San Ignacio, 1767-1773. Sala IX, 737, 449, donde entre ellos se encuentra el Inventario de la Botica del Colegio.

N° 2: Se observa el Inventario de la Botica del Colegio, donde se aprecia el sello del Archivo General de la Nación y la firma del escribano interviniente Don Joseph Zensano en 1767. El documento consta de 92 hojas, escritas en anverso y reverso, y se hallan descriptas: Medicinas, Utensilios y Oficinas, incluyendo la tasación de cada una de las cosas encontradas.

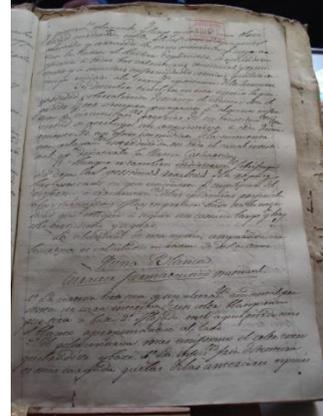
N° 3: Se observa la página donde comienza el inventario correspondiente a las medicinas de la Botica, y el mismo sello y firma de la foto 1.



N° 4



N° 5



N° 6

N° 4 y N° 5: Puede observarse el documento encontrado en el Archivo General de la Nación: “Apuntes de varias cosas tendientes a esta provincia (del Paraguay) sacadas del P. S. Asperger exjesuita de esas Misiones del Uruguay y Félix de Azara”. Apréciase que puede leerse claramente 31 de Mayo de 18?5. El tercer número está confuso.

N° 6: Se observa la página del mismo documento donde se halla la descripción de la Quina Blanca

siguen índices diversos incluido el de los nombres de dichas plantas en Tupí – Guaraní, para luego comenzar la vasta descripción botánica, con *Las Virtudes del Árbol de la Yerba*.

Los Catálogos Jesuíticos de 1703, 1715, 1720 y 1724, llaman al Hermano Montenegro cirujano (*chirurgus*) así como enfermero (*infirmarius*), haciendo referencia también a la poca salud con la que contaba, producto de la tisis, de la cual se había curado, gracias a las virtudes del Guayacán que él mismo describe con la siguiente receta magistral: “*su cocimiento bebido por largo tiempo, cura las llagas de los pulmones, mejor que otro remedio alguno, como lo tengo por experiencia, así en mí, como en otros muchos, que de asistir a tísicos o de visitarlos, la contrajimos en el Colegio de Córdoba, y viéndome ya como deshauciado... me curé de ese mal*”.

Resulta notable que en la obra de Asperger al hacer la descripción del Guayacán, no haya sacado este párrafo que escribe Montenegro citando su enfermedad, forma de contraerla y modo de curarla. Además es sugestivo que por ejemplo cuando habla del Mechoacán o de la Jalapa entre otras plantas, omitió: el... *que aquí está dibujado... o ...aquí pongo su estampa...* según figuran en Materia Médica Misionera, dado que la obra de Segismundo Asperger no contiene dibujos, como se mencionara anteriormente. Sin embargo su obra no culmina con las plantas contenidas en la obra de Montenegro, en la parte final de la misma ha incluido referencias sobre la Quina roja, la Quina amarilla y la Quina blanca, y otras plantas que no se encuentran en Materia Médica Misionera, posiblemente por no ser naturales en las Misiones donde le tocó actuar a Montenegro.

Si bien el resultado del estudio comparativo realizado, coincide con las aseveraciones de N. Arata en cuanto a que la obra de Asperger es copia de la del Padre Montenegro, podríamos también agregar que la enriqueció al incorporar otras plantas de uso medicinal, producto de su observación y de la experiencia que adquirió en otros sitios en que le tocó actuar. Lamentablemente en cuanto a los otros manuscritos que utilizó -según menciona Arata- para realizar su estudio, no pudieron ser consultados pues se desconoce aún su ubicación.

Plantas autóctonas americanas contenidas en la botica de la ciudad de Santa María de Buenos Ayres

Cuando el Rey de España Carlos III, expide la orden de la expulsión de los jesuitas en el año 1767, la Real Pragmática que ordena la confiscación de todos los bienes de los religiosos, tanto personales como los de las Misiones y demás posesiones, imparte instrucciones precisas sobre como realizar el riguroso inventario.

El Rey encomienda al gobernador de Buenos Aires, Don Francisco de Paula Bucareli, la ejecución del Real Decreto, no solo en la gobernación del Río de la Plata, sino también en todo el territorio de la Real Audiencia, a cuyos gobernantes debía informar, exigir y asesorar en el cumplimiento de tan importante medida.

Tan ardua es la labor encomendada que Bucareli escribe al Conde de Aranda: *...sobre quinientos jesuitas repartidos en dieciocho colegios, una casa de residencia, más de cincuenta estancias y obrajes, que son otros tantos colegios y lugares formados de crecido número de esclavos y sirvientes, treinta y tres pueblos de indios guaraníes, con más de cien mil alnas, doce de Avispones, Mocobíes, Lules y otras naciones, extendidas por el Gran Chaco hasta los Chiquitos...* Estos valiosos documentos nos permiten conocer las drogas contenidas en las boticas jesuitas, donde se encontraron muchas de las plantas mencionadas en las numerosas obras por ellos escritas.

Tras una paciente búsqueda en el Archivo General de la Nación, se encontró en el sector de Temporalidades, el legajo que contiene el Inventario realizado a los padres jesuitas por el Cirujano de la Armada Dn. Joseph de Entrena, en el que intervino como escribano Dn. Joseph Zensano, ante la presencia del Hermano Procurador Inocencio Mangañón, en el año 1767. Éste se identificó como División Colonia, Sección Gobierno, Buenos Aires, Colegio de San Ignacio, 1767-1773. Sala IX número 7-3-7, como puede apreciarse en las fotos 1 y 2.

Por su importancia histórica transcribimos el texto que se lee en la primera página del documento:

*En la ciudad de la Santísima Trinidad Puerto de Santa María de Buenos Ayres a primero de septiembre de mil setecientos sesenta y siete. El Exm Señor Dn Francisco Bucareli y Ursua Caballero Comendador del Almendralejo en la orden de Santiago, Gentilhombre de camara de su Majestad concentrada Theniente general de los Reales ejércitos Governador y Capitán general destas Provincias del rio de la Plata Tucuman y Paraguay ... que para tomar el conocimiento y dar las providencias conbenientes sobre los bienes y acciones del Colegio de San Ignacio en esta Ciudad, obras pías que había a su favor, y Procuraduría de Misiones que se administraba en él, de los frutos y caudales de los Pueblos de Indios Guaraníes situados en las inmediaciones de los ríos Paraná, y Uruguay = Se sacará razón de todas las Partidas de Plata y oro Sellado que constan en los **Inventarios** comprehendiendo en ella las prendas y alhajas de plata oro, Diamantes que estaban en el aposento rectoral, Procuraduría de dicho Colegio, Botica, los pedazos o piezas de plata de las dos lamparas viejas y lo hallado en el oficio de Misiones, que se pesará y tasará su lexítimo valor con distinción por Manuel Antunez Maestro Platero ,y Oribe = Se pondrá una razón de los creditos y debitos que consten en los Libros Quadernos i apuntes que se hallaron en la Botica la que se executará con la claridad y distinción debida y con la presencia del hermano Procurador Inocencio Mangañón = De todas las recetas que había en ella se formará relación de su número con expresión de los sujetos que las deben y su valor la tasará Dn Josseph de Entrena Cirujano de la Real Armada = El referido ... En Buenos Ayres a dos de Septiembre de mil setecientos sesenta y siete. Yo el Escribano hice notorio dicho auto, por lo respectibo al cargo que se le confiere, a Dn Josseph de Entrena, Cirujano de la Real Armada quien aceptó y juró segun derecho por Dios nuestro Señor y a una Señal de Cruz de usar fiel, y legalmente de el, y lo firmó el que doy fee = Joseph Zensano Entrena = Josseph Zensano.*

Al analizar las medicinas contenidas en la *Botica del Colegio*, según surge del minucioso Inventario, se encontró a lo largo de sus 92 páginas una amplia variedad de preparados de uso medicinal. Foto 3.

Todos ellos fueron confeccionados con distintas especies vegetales de origen europeo y autóctono americano, así como de origen mineral -azufre, plomo, mercurio, entre otros- y animal -alacranes, víboras, cuerno de ciervo, sangre de macho, cantáridas, dientes de jabalí, esperma de ballena, entre otros-. Entre las preparaciones curiosas surge *la Triaca o Theriaca, la Tierra Sellada y el Mitridate*, poderosos catavenenos o antídotos ampliamente difundidos en el mundo antiguo, ya que se les atribuían propiedades mágicas ante una posible causa de intoxicación, tanto para la prevención como para la curación de las mismas, extendiéndose su uso hasta el comienzo del S. XIX.

En cuanto a las especies vegetales nativas de uso indígena encontramos distintas clases de preparados a base de: *Arrayán, Algarrobo, Llantén, Canela, Palo Santo, Palo Sasafrás, Jalapa, Guayacán, raíz de Mechoacán, Ruibarbo, Corteza Peruviana, Bálsamo Peruviano, Bálsamo de Copayve, Sahuco, Contrayerba, Sangre de Drago, Hipericon, Estoraque, Mercuriales,, Caña fistola, Artemisa, Raíz de China, Achicoria, Toronjil, Henula campana, Rosa Mosqueta, Ajenjo, Lino, Pimienta blanca y dicha larga, laurel, trementina ordinaria y dicha del Paraguay, Alcaparrosa de la tierra,*

manteca de cacao, Culandrillo, Clavos, Yerba buena, Virga Aurea, Tamarindo, y Orozuz ó Regalizia.

Si nos atenemos al cálculo efectuado, con el fin de conocer el porcentaje de preparados medicinales a base de plantas autóctonas americanas que se hallaban en la Botica, surge que:

Aceites simples, de 21 clases halladas: 16 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **25% a plantas autóctonas**.

Trociscos, de 3 clases halladas: ninguno fue elaborado con especies vegetales.

Confecciones cordiales, de 11 clases halladas: ninguno fue elaborado con plantas autóctonas.

Polvos diferentes, de 83 clases halladas: 6 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **50% a plantas autóctonas**.

Conservas, de 6 clases halladas: 5 fueron elaboradas con especies vegetales, correspondiendo el **50% a plantas autóctonas**.

Emplastos, de 24 clases halladas: 6 fueron elaborados con especies vegetales, pero ninguno con plantas autóctonas.

Simples, de 225 clases halladas: 60 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **80% a plantas autóctonas**.

Aceites esenciales, de 23 clases halladas: 23 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **40% a plantas autóctonas**.

Espíritus, de 15 clases halladas: ninguno fue elaborado con especies vegetales.

Jarabes, de 39 clases halladas: 19 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **30% a plantas autóctonas**.

Sales volátiles y finas, de 28 clases halladas: 12 fueron elaboradas con especies vegetales, correspondiendo el **50% a plantas autóctonas**.

Ungüentos, de 20 clases halladas: ninguno correspondió a plantas autóctonas.

Bálsamos, de 21 clases halladas: 3 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **66% a plantas autóctonas**.

Píldoras, de 5 clases halladas: 4 fueron elaboradas con especies vegetales, correspondiendo el **50% a plantas autóctonas**.

Zumos, de 6 clases halladas: 4 fueron elaborados con especies vegetales, correspondiendo el **25% a plantas autóctonas**.

Aguas existentes, de 16 clases halladas: 15 fueron elaboradas con especies vegetales, correspondiendo el **50% a plantas autóctonas**.

Aguas compuestas, de 4 clases halladas: 4 fueron elaboradas con especies vegetales, correspondiendo el **25% a plantas autóctonas**.

Reviste interés el dato obtenido sobre los porcentajes de plantas autóctonas americanas que formaron parte de los preparados medicinales de la Botica, pues confirma la importancia que los religiosos le asignaban a la *Farmacopea Natural* de los aborígenes, en cuanto a la eficacia terapéutica de las plantas y a los métodos de aplicación sanitaria por ellos utilizados.

En cuanto a los autores de los libros y los Códex que existían en la *Botica del Colegio*, al momento de realizarse el Inventario de la misma, es un dato que lamentablemente se desconoce, ya que Dn. Joseph Entrena solamente consignó en el documento: ... **Libros de medicinas, Cirujía, Botánica y Química de diferentes autores y algunas obras incompletas diez y ocho en treinta y ocho pesos...**

COMENTARIOS Y PROPIEDADES QUE CITAN ALGUNOS CÓDICICES Y HERBARIOS SOBRE PLANTAS AUTÓCTONAS AMERICANAS DE USO MEDICINAL.

Quina ó Corteza Peruana ó Bálsamo de Perú

Myrospermum emarginatum

Dentro de las drogas inventariadas en la Botica del Colegio de la ciudad de Santa María de Buenos Ayres, no se la menciona como Quina sino como Corteza peruviana y Bálsamo peruviano.

El Padre Montenegro no la incluye en Materia Médica Misionera quizás porque no era un árbol natural del Paraguay.

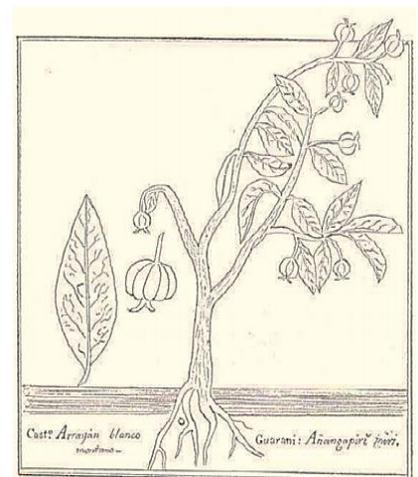
Sin embargo Dobrizhoffer comienza su descripción diciendo sobre ella: *En la región de los indios Chiquitos hay abundancia de árboles que ellos denominan pizóes. Son memorables porque su corteza suministra la China Chinae (Cortex peruvianus) o la quina.... Ella (la semilla) contiene un jugo pardo, balsámico, agradablemente oloroso y muy amargo. Los Indios mitigan con (este jugo) sus dolores de ojos, de garganta y de estomago cuando estos son una consecuencia del resfrío.... Como esta corteza se usa tan ampliamente en todas partes, no solo para las fiebres sino tambien en otras enfermedades, ya no debería haber desde mucho tiempo, según mi opinión existencia alguna de los bosques de pizóe en el Perú y Quito que es donde abunda. Algunos denominan tambien, polvo jesuita a la quina porque los misioneros Peruanos de esta Sociedad han dado a conocer la espléndida virtud de ella contra la fiebre. El célebre médico Woyts dice que el jesuita español y más tarde Cardenal de Lugo había traído en el año 1650 esta medicina por primera vez a Europa.*

Según el Dr. Parodi practicando incisiones en el tronco fluye despacio una resina negruzca, que no parece diferir del Bálsamo de Perú seco.

Arrayán ó Añangapirí mirí, Guabiyú, Íbahú,

Eugenia cisplatensis

Comienza Montenegro diciendo: *El Arrayán montano que nos pinta Dios Corides, llaman aquí los indios guabiyú..... es el mejor de cuantos hay en el uso de medicina hay en estas partes de las Misiones varias especies cuyas muy diferentes en figura y grandor, como son Guabiyú guazú, Guabiyú miri: Añangapiri guazú, Añangapiri miri, y cada una de estas especies dividense en blanco y negro. Describe las características de cada especie y la forma de prepararlas para obtener una mayor eficacia terapéutica.... alabado en estas Misiones, único remedio en los flujos de vientre, que proceden de calor, como es el flujo de sangre del hígado, -la disentería-, y en toda flusion colerica y sanguinea del vientre, por inflamación o replecion de los miembros internos. ataja la diarrea..... por relajación de estomago. Utiliza en sus recetas los frutos, flores, cogollos y corteza del Arrayán.*

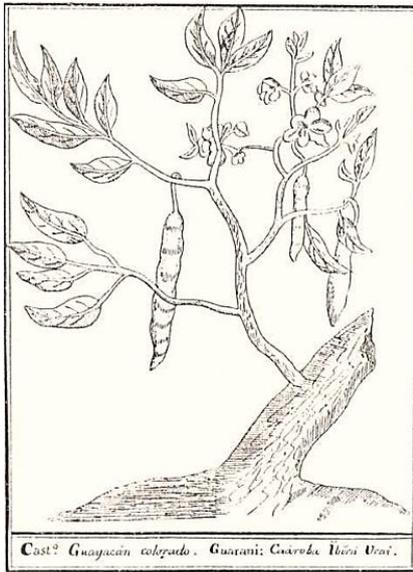


Cast: Arrayán blanco montano. Guarani: Añangapirí miri

Guayacán ó Ibirá ehé e Ibirá ucaí

Melanocarpa griseb

Menciona que existen cuatro especies, la primera cierta clase de algarrobo negro que los indios



Cast.^o Guayacán colorado. Guaraní: Caároba Ibirá Ucaí.

llaman *quebra hacha* por su gran dureza, la segunda llamada *Tarco*, la tercera que es de la que incluye la estampa y refiere, cito: “..... este es el que he usado en medicina, y es el propio que en España he usado, y visto usar, llevado del Brasil...”. La cuarta especie de Palo Santo indica que es la que traen del Chaco “.... cuando bñ á corredurias, ó malocas de Mbocobies..... el cual es muy aromático y resinoso; estoy esperando sus ramas..... si me las trajesen podré dar su estampa.....” En cuanto a sus virtudes: *El cocimiento del Guayacán bebido por largo tiempo cura las llagas de los pulmones, mejor que otro remedio alguno, como lo tengo por experiencia..... El cocimiento de la corteza o palo del Guayacán ó palo santo negro, cura las lagalicas de todo el cuerpo, con solo lavarse a menudo con él, y bebiendo al mismo tiempo su agua..... y así mismo los otros tres, como dejo ya apuntado mayormente el del Guaicurú y el llamado Tarco: aunque este por bebida no lo he querido usar, por no estar en uso de medicina en los autores, solo he usado de él en llagas por de fuera ¡con admirable suceso!! Así en llagas cavernosas, como en las manifiestas, y en las del hígado*

y partes internas he usado de los dos.... .Cura asimismo el cocimiento del Guayacán lavándose con él á menudota tiña seca, y postillas de la cabeza y la morfea ó mal muerto..... Cura con admiración la tiña húmeda..... La goma o resina de los dos es único remedio á los dicentericos, y flujos de vientre..... reprime los ahogos del asma..... las enfermedades de reumas frías haciendo bebidas magistrales, segun la necesidad y sujetos, ó complicación de morbos”.

Dobrizhoffer señala: “*Se equivocan quienes consideran como iguales al palo santo y la madera del Guayacán, si bien yo concuerdo con ellos en que si poseen iguales propiedades sanitarias, ambos árboles se distinguen manifiestamente no sólo en el nombre sino también en la forma”.*

Resulta interesante mencionar al jesuita Pedro Lozano historiador y naturalista, que publicó en Córdoba, España, en 1733 su celebrada obra *Historia de la Conquista*, en ella Lozano apela a la fantasía más absoluta al hablar entre otras plantas sobre el Guayacán: “.... *La producción de este árbol es uno de los raros prodigios de la naturaleza, porque en sus flores se crían ciertas mariposas que podemos llamar con propiedad su fruto, pues no da otro; crecen hasta cierto tamaño, en el cual sintiendo con natural instinto que se acerca su fin..... convierten en vegetal su vida sensitiva, volviéndose en árbol la sustancia de la mariposa, porque al tiempo señalado se aferran a la tierra introduciendo en ella sus piecillos, que con facilidad se convierten en raíces, y por las espaldas, entre las pinturas de las alas, empieza a brotar el retoño, como otro cualquiera de su propia semilla.”*

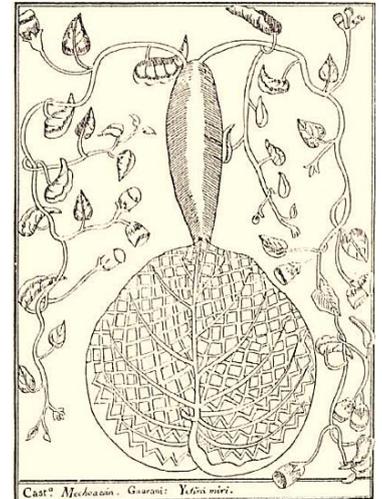
Mechoacán ó Yetirá mirí

Bryonia sp.

Se hallan en estas tierras de Misiones dos especies de Mechoacán blanco y negro, dibujando Montenegro el blanco ya que es el que sirve para purgar, describiéndonos ambas variedades con todo detalle. Nos informa sus virtudes entre ellas: ... *purga con notable sosiego la flema, colera, y melancolia, mayormente si se mezcla con otro que le sirba de agente como para purgar la flema,.... Si se saca su leche por expresión, y se guarda echo panes es muy eficaz, y muy grata: sacase de esta forma:*

En el último cuarto de luna de Julio, ó en la de Agosto se cojen las raíces sin herirlas, y se laban muy bien, y se raspan la tierra y tunica, ó piel externa, y luego al punto se rallan en unos bilques de barro vidriado, ó sin vidriar, y después de rallada sutil se le salpica con agua se exprime con prensa,..... se deja asentar muy bien, y se pone al Sol.... hasta que se seca, y así se guarda..... Consta por la experiencia, que para las molestas ventocedades, que por mucho tiempo han dado trabajo, es único remedio..... mayormente á los que padecen ventocedades hipocondriacas, ó frias..... El polvo tostado.... ataja el flujo del vientre con tanta eficacia, como el ruibarbo.... pero además de sus virtudes también advierte: esta toda la raíz embebida de cierto humor acuoso, á modo de agua engomada, la cual es insípida, y nada grata al estomago, por la cual causa á veces vomito cuando se da en infusión.

Dobrizhoffer es muy poco lo que nos dice sobre el Mechoacán. Nos menciona que algunos la llaman Bryonia índica, aunque esta es en realidad diferente. Agrega que: ... *El Mechoacán se llama también Ruibarbo blanco y es muy conveniente a los niños para purgarlos suavemente pues el polvo producido de su raíz no tiene sabor y aparente aspecto de harina.*



Cast. Mechoacán. Guaraní: Yetirá mirí.

Cast. Mechoacán. Guaraní: Yetirá mirí.

Contra yerba del Perú ó taropé

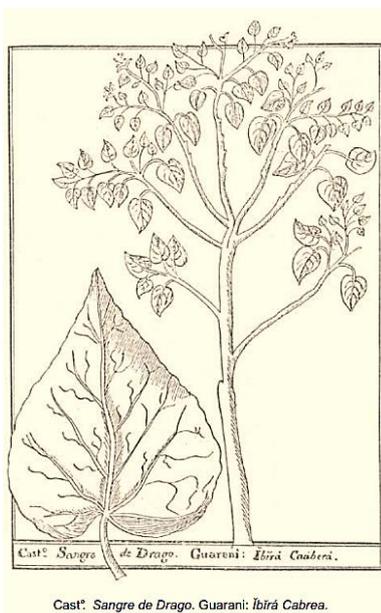
Dorstenia brasiliensis

Indica Montenegro que es de las más abundantes en estas tierras, conociéndola casi todos los indios, habiendo una macho y otra hembra que se asemejan en sus hojas pero difiriendo en su raíz y fruto, aunque aclara que ambas son de igual vigor. En cuanto a sus virtudes: *Tiene virtud potentísima contra las mordeduras de las fieras, que arrojan de sí ponzoña fria, como es la vibora, culebra, aspid, ceraste, escuerzo, zapos, y semejantes. La misma eficacia posehe contra cualquiera otro veneno frio, dado en bebida ó comida y en destruir los accidentes que ellos dejan impresos..... Poniendo su raíz machacada sobre la mordedura de la vibora, ataja el veneno que no corra, y lo estirpa,..... no correra riesgo el mordido: excepto cuando mordiere en nerbios, musculos, ó en venas y arterias, que entonces aún la mejor triaca tiene bien que hacer.* Consigna varias recetas con el cocimiento de su raíz atribuyéndole propiedades benéficas contra las fiebres pútridas y malignas, viruelas y sarampión, para deshacer grumos de sangre extravenada en las cavidades del pecho, y vientre, ayudar a bajar la sangre menstrea, y la criatura muerta y corrompida en el vientre de la madre. Además mata a las lombrices y gusanos internos, y de las úlceras, machacándola y poniendo su zumo o su polvo en ellas. Recomienda sus raíces para los enfermos, como único remedio en tiempos de pestes, agrega

que lavándose el cuerpo con el preparado en vinagre de su raíz, o enjuagándose la boca con él, es preservativo de pestes y venenos, enfatizando, cito: y tengo por cierto, que mientras durare su virtud, y olor en la piel humana, no le morderá vibora, ni culebra, ni escuerzo, ó otra cualquiera de veneno frio, huyen las sabandijas venenosas de su olor, y pienso que con su contacto las mata. Advierte que no se exceda la dosis ya que es peligroso: no mate sofocando.

Sangre de Drago ó Ibirá caáberá

Croton succirubrus



Nos dice Montenegro: *Hallanse dos diversas especies de este arbol, que por su corteza y tronco, después de herido nos socorre con la sangre de sus entrañas, para que podamos remediar, y enfrenar los desordenados y peligrosos flujos de la nuestra. El primero se llama Caáberá en Guaraní, que es el que aquí dejo estampado.... La segunda especie de este arbol se halla en la gobernación del Tucumán, y la llaman los naturales tipa. En cuanto a sus virtudes nos dice: El sangre de Drago verdadero para medicina es el licor de este arbol, y no aquella especie de mermellon , ó cinabrio que nos dice Dios Corides y Laguna y así para sacar la Sangre de Drago, es necesario, que en la creciente de luna, ó al último de ella hágan talla ál arbol en el mes de Julio o Agosto, poniendo un mate ó calabazo para que la recoja, arrojando a la sición del arbol, que la dá en abundancia, y gran copia, y dejandola secar al sol se guarda para el uso de medicina muchos años: pero la mejor es la mas nueva retiene los flujos de sangre que salen por la boca, y sorbido por las narices detiene las que por*

ellas sale así mismo detiene el flujo de sangre lluvia, y menstuo, y lo mismo hace en las heridas de venas cortadas con flujo de sangre. La Sangre de Drago puesta en la boca ó muelas que duelen, por corrimientos de calor, mitiga el dolor, y ataja el corrimiento, así de las muelas como el de los dientes, sacando lo contenido en la parte lesa por esputo, ó saliva..... Blanquea la dentadura y la fortifica.....

Dobrizhoffer nos refiere que: *Los árboles Caá verá de los cuales procede la Sangre de Dragón, en latín sanguis draconis, en español Sangre de Drago..... Si se hace una profunda incisión en un tronco, emana un jugo parecido a sangre en su color y en su espesor. Hervido al fuego se condensa en una resina de color de hígado. Los médicos se quejan a veces que los comerciantes extranjeros venden frecuentemente en su substitución sangre de cabrón mezclada con bolo o palo de Brasil rojo, mezclado con goma arábica.*

Llantén silvestre ó Caá yuqui

Plantago sp.

Montenegro indica que existen dos especies muy parecidas, el mayor y el menor, dando la estampa de la variedad mayor que se encuentra en las Misiones en las orillas de los arroyos y ríos, mientras que la variedad menor se encuentra en las campañas y caminos a cada paso. Aclara que las dos variedades acuáticas no difieren a las dibujadas por Dios Córides y Mathiolo, y que constan de las

virtudes que ellos manifiestan, mientras que sí observa diferencias respecto de las dos variedades terrestres que se hallan en estas tierras. En cuanto a sus virtudes curativas consigna lo siguiente: *El zumo de este Llantén después de bien machacado exprimido y dado de él á beber.....es único remedio para retener cualquier flujo de sangre que sale de lo interno, ó sea del pecho, hígado, bazo, ó estomago, y para el flujo de narices..... Asi mismo restaña la sangre menstrua inmodica de los meses, y lluvia, y metiendo mechas por aquella parte donde sale hasta que se estanque, que es eficaz remedio.....* Continúa narrando sorprendentes experiencias que tuvo curando por medio del zumo, a una india que por el pulmón arrojaba grandes cantidades de sangre, así como a dos Padres Jesuitas por el mismo motivo, indica además que el mismo efecto tienen los polvos de la raíz de Llantén y hojas. Cura además su cocimiento, llagas y heridas, y sus hojas estancan el flujo de venas, y arterias menores cortadas.

Llantén grande ó repotí atá

Plantago major

Indica Montenegro que el repotí atá, también recibe por los indios el nombre de Caá yuquí guazú, que significa llantén grande con raíz de batata. En cuanto a sus virtudes consigna: *Su raíz bien lavada de la tierra, cocindola muy bien...., tomada por bebida es único remedio a los que padecen fiebres malignas, y putridas, con camaras de sangre..... Sus cortezas muy cocidas en agua..... Echado por labativas ataja las camaras de sangre, que proviene de causa pestilente..... y cura las llagas de los intestinos..... Sus ojos sirven a falta de Llantén..... cura las recientes heridas y llagas..... Su raíz asi cruda comida ó mascada ataja los corrimientos que vienen á los dientes y muelas, y las inflaciones de las agallas, y tragadero, reprime la inflamación del hígado, y estomago, y los reconforta cuando padecen de calor; pero no se use a lo largo porque comprime mucho las vias.*

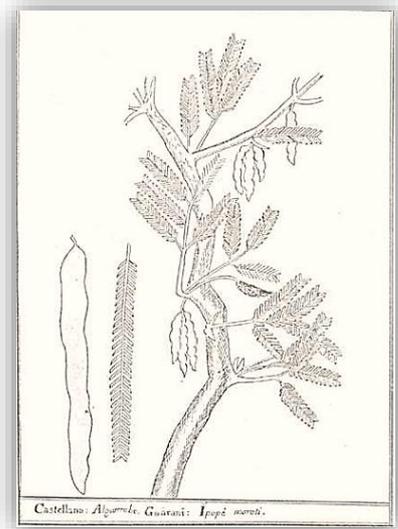
No es mencionado en otras obras consultadas.

Algarrobo ó Ipopé moroti

Prosopis sp.

Comienza su descripción Montenegro: *El algarrobo es arbol muy conocido por todas estas Provincias, aunque en estas Misiones no hay, sino tal cual que algunos Padres sembraron sus semillas en las huertas trahidas de Santiago del Estero, á donde todos los montes los mas de los arboles son de su especie: son cuatro las diferencias que hay, es á saber: dos blancos masculinos y femeninos, y dos negros de distintas señales..... En cuanto a sus virtudes señala: La algarroba verde bien machacada y limpia de sus granos y baynilla, de suerte que quede solo la pulpa de adentro y de fuera de su corteza,..... como unguento aplicada a modo de emplasto sana las quebraduras recientes, ó que no lleguen a tener año..... y si tomare el polvo de la harina de la algarroba, que llaman patái sera mas pronta y breve la cura..... Se hace de ella un genero de aloja, que dicen chicha, la cual tomada con moderacion por la tarde y mañana abre las vias, deshace las piedras y tofos de la vejiga – purga el cuerpo de humores gruesos y biscosos, y lo saca por camara y orina con gran suavidad, sin congojas ni desabrimiento – Asi lo tengo tambien por unico remedio para hidropesía de humor acuoso, y asimismo las opilaciones haciendo ejercicio después de haberlas tomado.*

Dobrizhoffer se refiere extensamente a sus características y virtudes, cito: *Este árbol recibe muchos nombres: su fruto es llamado por los españoles algarroba; siliqua graeca por los latinos, kagátiov por los griegos, por Galeno keediwvia, pan de San Juan por los alemanes y capricorno por el pueblo. Pero la algarroba americana difiere por el tamaño, la forma y el color de la que se encuentra por doquier, y que los españoles llaman algarroba de Berbería en Alemania..... Las vainas de la algarroba paraguaya son largas como una palma,..... están cubiertas por una película amarilla, y llena de semillas más pequeñas..... De los muchos géneros de algarroba que nacen en Paracuaria, recuerdo dos: una llamada blanca y otra negra..... Corresponde a las mujeres el trabajo de recolectarla en las selvas, llevarla a caballo hasta la casa, molerla en el mortero y verterla en una especie de vasija de piel de buey mezclada con agua fría; allí, sin otro añadido, después de unas doce horas toma un color semejante al mosto y entra en ebullición Su uso desmedido produce la inestabilidad en la cabeza y los pies, como también de la lengua. Los Abipones no necesitan ni del vino..... para embriagarse, ya que les basta con esta bebida de algarroba, durándole su efecto varias horas y aún a veces días continuados. Más de una vez vimos a un Abipón sospechoso de caquexia o de alguna otra enfermedad crónica; entonces solíamos decirle: "Vive mientras macere la siliqua graeca"; el infeliz, invariablemente reanimado por ella, convalecía con toda seguridad. Tan saludable era, que a los que yacían postrados con sus fuerzas marchitas, revivían escanciando abundantemente de esta dulce bebida, para maravilla nuestra. Más adelante agrega una tercera y una cuarta especie y con esta última indica: Los habitantes preparan de ella una bebida que es esencialmente febrífuga y por esto según el testimonio del P. Tomás Falconer, médico, restituye la salud a muchos que en Europa sanarían solo con la cura de saliva.*



Xalapa ó Caá lambí

Ipomoea purga

Mirabilis peruviana

Refiere Montenegro en su obra que hay cuatro especies mayores y dos menores de xalapa en estas tierras de las Misiones, siendo la mejor en sus propiedades medicinales la que acompaña con su estampa, por ser menos fría y más amiga del estómago. En cuanto a sus virtudes recomienda como recogerla y procesarla al sol para, cito: *condensar su licor en su corteza.....* para luego obtener un polvo sutil. Agrega: *purga excelentemente por abajo y por arriba, y es único remedio para los que se requieren purgar el estomago por la boca y no echar los humores en copia á las vias inferiores, y vejiga, sin hacer daños en lo interno,.... La purga de la xalapa es soberano remedio á los que padecen enfermedades de humores flematicos, gruesos y crasos, como humores galicos, y dolores arteticos:- bubones:- incordios:- gota de frialdad y humedad:- sobrehuesos:- escrófulas y lobanillos:- y lamparones tiernos,..... catarros ferinos, mata las lombrices ó las atolondra y las hace bajar por la camara unas muertas, y otras medio vivas atolondradas.....*

Dobrizhoffer nos dice lo abundante que es en Paraguay la raíz de jalapa, denominada por los botánicos como planta Mirabilis peruviana. En cuanto a las virtudes terapéuticas agrega: *Ella expele del cuerpo no solo la bilis y la flema sino también otros malos humores. Se hace de ella la*

resina de jalapa, resina de positiva utilidad. La jalapa se denomina por algunos también el mechoacán negro.

En opinión de Sánchez Labrador la jalapa o jalapa mexicana tan ponderada en Europa, corresponde al yetibay; esto le fue informado mientras permanecía en la Reducción de Apóstoles por.... *dos varones inteligentes en materia médica, el Hermano Chulac y el Padre Aperger....*

Copayba ó cupai

Myroxylon pereyrae L.

Los Incas extraían el bálsamo a partir de la corteza de este árbol con el cual trataban estados febriles y trastornos respiratorios. En 1565 es Nicolás Monardes el primer europeo que registró sus usos medicinales. El bálsamo exportado a Europa se vuelve tan preciado que llegó su precio a valer el equivalente de su peso en oro. Las bulas papales de 1562 y 1571 declararon como delito la destrucción de estos árboles, siendo su aceite consagrado en determinados rituales de la Iglesia Católica. En el s. XVII fue por primera vez incorporado a la farmacopea alemana. Su nombre popular deriva del lugar donde se embarcaba para ser exportado, el Puerto del Callao, Perú.

Montenegro con sinceridad nos revela que él no lo conoce aunque otros dos jesuitas le hablaron de éste árbol, además declara que la estampa que ilustra su obra es sacada de la obra de G. Pison. Explica el modo de sacar el bálsamo de Copayba en abundancia por parte de los portugueses y tupís que consiste en hacer una incisión del tamaño de una muñeca de hombre, llegando al corazón del árbol, colocando una vasija se recoge el bálsamo que exuda, y cuando disminuye en cantidad le ponen fuego del lado opuesto al hueco realizado tratando de no quemarlo, así brota en cantidad. En cuanto a sus propiedades terapéuticas, cito: *á causa de sus admirables virtudes, porque aplicado caliente á las más penetrantes y peligrosas heridas, las cura por primera intención en 24 horas,..... como lo tengo por experiencia en casos muy desesperados de heridas muy penetrantes, asi de cabeza como de vientre y pecho, y en musculos y nervios cortados, con solo calentarlos en una cuchara de metal hasta que hierva y humée, y con unas hilas mojadas en él, asi caliente aplicarlo a las heridas, cuanto caliente lo pudiera sufrir el paciente es único remedio a los que arrancan sangre y materia del pecho, ahora sea por golpe ó contusion antigua, de caída, ó rodadura, ó magullamiento, ó por herida penetrante del pecho*

Dobrizhoffer nos agrega que la recolección del preciado aceite debe hacerse en primavera en septiembre y bajo luna llena, para que mane abundantemente, según aclara lo tiene por propia experiencia. Nos indica que el aceite se diferencia poco del agua en su color, siendo de sabor amargo y que es muy usado por médicos y pintores. En cuanto a sus virtudes terapéuticas, cito: *No conozco su virtud por experiencias propias sino solo por lo que otros me han referido al respecto. Si este aceite se coloca estando caliente sobre una herida, sujeta la sangre y la sana en corto tiempo. Sirve también para curar las mordeduras de víboras y para la cura completa de las cicatrices antiguas. Untado al pecho sana la languidez estomacal y mitiga el dolor de barriga surgido de un resfrío. Dos o tres gotas servidas dentro de un huevo pasado por agua mitigan la disentería y otros males parecidos y a los intestinos les devuelve su natural tensión y energía.....*

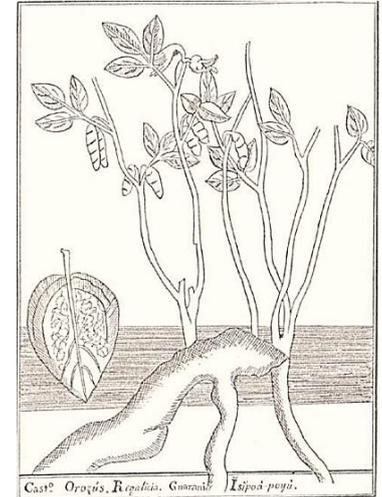
Además nos advierte, cito: ... *De este mismo aceite Cupay se hace..... el bálsamo Cupayba tan famoso en Europa, pero a este bálsamo se mezclan también otras resinas especialmente del árbol Ybirapayé.... como se puede deducir por su olor fuerte y agradable Apenas puedo creer que éste llegue puro y sin mezcla desde América a nuestros talleres, porque los negociamos, para lograr un mayor peso con él, suelen agregarle no se que mezclas heterogéneas.....*

Según Sánchez Labrador la resina o bálsamo del Cupay, llamado también Bálsamo de Copaiba y Aceite de Palo es, a su juicio, un medicamento eficazísimo contra catarros, disenterías, tercianas y cuartanas, y contra el mal ciático. Opina además que es el mismo que se llama en Europa Bálsamo del Perú.

Orozús, Regalicia ó Isipoá - poyú

Glicyrrhiza glabra L.

Asevera Montenegro que el Orozús de estas tierras de Misiones y Provincias del Paraguay es muy distinto al europeo, aunque muy semejante en cuanto a su olor, sabor y dulzor. Recomienda la raíz del orozús después de limpiarla, raída su piel y despedazada, luego de preparada para, cito: *las pasiones catarrales, que caen de la cabeza al pecho, y así mismo las reumaticas, ó las que de otros miembros internos mandantes fluyen al pecho, y pulmones. Como en el dolor de costado, asma, dismia, pulmonía, empiematicas, y en fin saca todas aquellas materias que de heridas penetrantes del pecho se hacen de la sangre, que en lo interno se estravenó, y cuajó por esputo.* Agrega diversos casos contando su experiencia en el uso de la Regalicia.



Cast. Orozús. Regalicia. Guaraní: Isipoá - poyú.

No se describe en otras obras consultadas.

Mercuriales ó Marba caá ó Típicha – tá

Mercuriales annua

Aclara Montenegro que los mercuriales de estas tierras difieren en algunos aspectos con los descritos por Andrés de Laguna. En cuanto a sus propiedades terapéuticas los recomienda para ablandar los estómagos y vientres más endurecidos, y que no pudieron ser purgados con el ruibarbo, escamonea, ó sen. Además purga la cólera y agua del estómago y vientre con gran suavidad, lo recomienda como único remedio en el principio de la hidropesía humoral y ventosa, tomada sola como con eneldo, ruda, manzanilla y semilla de anís. Continúa, cito: *Los mercuriales se mezclan en las infusiones de las purgas con admirable sucesos en todos los cuerpos secos y difíciles de purgar, y en los que han padecido fiebres muy ardientes, ó que quedan muy flacos de largas y molestas fiebres putridas.....*

Según indica el Dr. Parodi el origen de su nombre no proviene, como podría suponerse, porque tengan virtudes medicinales semejantes al metal mercurio, sino porque los antiguos atribuían el descubrimiento de esta planta al Dios Mercurio o por alteración de la palabra *Muliercularis* por ser útil en ciertas enfermedades de las mujeres. Agrega que su decocción, algo laxante, se emplea contra las afecciones sifilíticas, en forma interna y externa.

Canela ó Caliacha, Cucardo**Cassia lignea**

Montenegro nos habla de varias especies de canela y nos refiere, cito: *Advierte el Dor. Laguna, que Cassia linea es Canela, y Cassia fistola la comun Caña fistola solutiva nuestra..... Tomada la Canela ó su cocimiento con miel de avejas, hace bajar la regla á las mugeres..... y untandose con ella quita las manchas del rostro.....- Administrase á modo de perfume, ó de baño para desopilar la matriz.- El agua destilada de su flor y corteza verde..... Las virtudes de esta agua son admirables en toda enfermedad de causa fria y muy eficaz porque digiere la flema, y los humores lentos y viscosos los adelgaza.- Consume los flatos y ventocedades:- Conforta grandemente el cerebro, corazon, estomago, higado y bazo, todos los interiores miembros flacos... y con admiración socorre toda pasion de nervios, desmayos y dejaciones del animo:- y excelente remedio para el mal de corazon:- contra la mrdadura de animales ponzoñosos.... Aprovecha a los asmaticos que no pueden resollar:- a los que estan sin fuerzas.....*

No se describe en otras obras consultadas.

Sasafrás ó Salsafrás o apeterebi**Sassafras officinalis**

Hállanse en abundancia por todas partes de estas tierras de la Doctrina el sasafrás..... por los montes y bosques, y a orillas de arroyos y ríos..... comienza escribiendo el padre Montenegro. En cuanto a sus virtudes, cito: Es muy celebrado por la más de las naciones, así bárbaras como domesticas para el mal de piedra, y provocar las retenciones y supreciones de la orina, y cierto que es tan eficaz y violento en esta virtud, que es menester no exceder en su taza, porque será exponerse a varios trabajos, como son flujo de sangre por la vía, llagas de vejiga, y curunculas por todas las vías, que hay desde los riñones hasta la punta del caño, como lo he visto y curado dos veces, á personas que se lo dieron en cantidad muy exorbitante, como cuatro ó cinco docis de una vez; el modo de usarlo es como sigue: (para curar, ó quebrar la piedra, y curar las llagas de los riñones y vejiga..... continúa con una serie de detalladas de recetas explicando que parte convenía elegir del vegetal, como se preparaba, dosis, experiencias terapéuticas personales y para culminar distintas advertencias, entre ellas, cito: ¡Ojo!!- No hagan este cocimiento en cosas de cobre ni laton, por limpio que esté, porque adquiere lo correcibo del cobre, y entonces es muy dañoso á lo interno, y violento á las llagas.

En su obra Dobrizhoffer advierte sobre el sasafrás, cito: *Los farmacéuticos deben cuidarse mucho en no recibir en su compra a los comerciantes del exterior madera de abeto hervida en hinojo en lugar de sasafrás..... indica como propiedades terapéuticas de las dos variedades que menciona, cito: Ambos árboles poseen, según se dice, iguales propiedades para promover sudor y orina en las enfermedades por resfrío, mal venéreo, oclusión intestinal, dolores del útero. Pero basta de esto. Nuestros médicos conocen muy bien el uso y las propiedades de esta saludable madera.....*

Rosa Mosqueta ó Ibotí moroti**Rosa rubiginosa**

Montenegro comienza expresando: *Aunque mi intento no es mas que tratar de las plantas propias de esta tierra, que no estan hasta hoy delineadas con nombres propios de los autores herbarios, todavía por no hallar dibujada la rosa Mosqueta en Dios Corides, Mathiolo, ni en Gaspar de Bakin frances que añadio algunas sobre Mathiolo, me parecio necesario dibujarla, y declarar sus cualidades, y excelentes virtudes, y modo de usarla..... Es la planta de la Mosqueta tan fecunda en estas tierras de las Misiones que todo el año esta echando flores.....Sus flores cojidas despues de perdido el rocío..... haciendo de ella infusiones..... es el mas soberano y eficaz remedio de cuantos he hallado de plantas que haigan en estas tierras. Para purgar la colera y la melancolia: purificar la sangre del sero aquoso y putridinoso..... Indica una serie de recetas y continúa hablando de las virtudes de las hojas de la Mosqueta: Sus ojas secas es mas eficaz remedio en restriñir, que las demas rosas, asi en ayudas como en lavativas, como en jarabes, para flujos de vientre, y relajaiones de los miembros de la coucion:- en los casos en que se escupe sangre ó sale sangre del pecho, si se mezcla con las ojas de llantén partes iguales,..... es soberano remedio.....*

No se hallaron referencias a la rosa Mosqueta en otros herbarios consultados.

Caña fistola ó Ibopé catupiri hevea**Cassia fistula**

Comienza el padre Montenegro hablando de las dos especies que se encuentran en América, indicando que la segunda especie, cito: *se halla a las orillas del río Paraguay, río arriba, de la cual así en figura como en grandor, grosor y aspereza de su caña es muy desigual, como así mismo en el olor y sabor, porque despide de sí un olor pesado al cerebro.....* agrega los usos terapéuticos según Mathiolo y Laguna para completarlos según sus apreciaciones, cito: *Es la Caña fistola lenitiva del pecho, templá el calor de los riñones, mitiga el ardor de la orina, preserva de criar arenas, y piedra de riñones y vejiga,.... hace dormir a los febricitantes, y freneticos: por lo cual se suele dar de ordinario a los que desvarian, indica recetas y continúa. Es utilísima á las calenturas ardientes, que desecan mucho los cuerpos, untando por de fuera á las inflamaciones externas que salen al cuero, las cura – principalmente la Isipula (la erisipela) ó fuego de San Antón.*

No se describe en otras obras consultadas.

Camalea ó Achicoria ó Caá uguai guazú**Cichorium intybus**

Según Montenegro caáuguay guazú quiere decir *achicoria grande* y menciona: *.La comen los Indios en tiempo de hambres, y asimismo se valen de ellas para medicina.....* Indica que hay cuatro variedades, las tres primeras conocidas por todos y muy semejantes a las de Europa, por ello expresa que no las dibuja, lo que si hace con la cuarta variedad por tratarse según sus palabras: *de cosa tan especial.* En cuanto a sus virtudes considera: *tiene virtud desopilativa y aperitiva*

de vias: corrige la putrefacción de los humores dada a comer en el sustento de los enfermos por comida ó bebida: - Deshace la piedra de la vejiga, su cocimiento bebido en ayunas, según me han asegurado, y así mismo proboca las arenas de los riñones, y abre las obstrucciones de las ureteras y vias de la orina. Su raíz asada en el rescoldo..... me asegura cierto Indio practico, ser remedio a las camaras originadas de gusanos, y á los vomitos, y relajación de estomago. Lo que puedo decir es, que asada y dada á comer..... á modo de ensalada de cardo, reprime los flujos de vientre dichos celiacos, y los dicentericos.....

No se describe en otras obras consultadas.

Palo Santo, Lapacho, Guayaco ó Tahibo ó Tayí

Guaiacum officinalis

Comienza aclarando Montenegro, cito: *El Palo Santo oloroso que traen del Chaco, y tierras de Infieles Guaycurús, y Mbocobis, es tan parecido al Lapacho, ó Tahibo, que el Indio llama Tayí, que en hojas y cortezas no se distingue, solo en las flores son diversos En cuanto a sus virtudes nos dice: El Palo Santo del Guaycurú, ó aromático y resinoso, es uno de los mas eficaces remedios que hasta hoy se han descubierto en curar úlceras, y llagas de todas las partes internas: como son las del pulmón, del higado, estomago, intestinos, riñones, y vejiga, con solo beber su cocimiento por largo tiempo, y así puedo asegurar, que debo la vida años há á su virtud el Palo Santo amarillo, ó aleonado aromático excede con muchos quilates en virtud al Guayacan ademas de esto retiene todos los flujos de vientre, que proceden de relajación, frialdad y demasiada humedad,.... Luego indica varias recetas magistrales con Palo Santo o Guayacán combinándolos con raíz de China, Aristoloquia , raíces de Achicoria, Borraja, Polipodio, perejil, etc.*

Según Dobrizhoffer, el Palo Santo es el que en latín se conoce como lignum sanctum. Agrega que los indios usan la resina que exuda, siendo amarga, aromática y según algunos un remedio, lo mismo que su madera, usada en la disentería al tomarla con agua caliente, indicando que este árbol no crece en la Paracuaria del sur sino únicamente en la del norte donde viven los Mocobíes y Abipones.

Tamarindo real ó yutai ó Ibaahí

Tamarindus indica

Montenegro indica que las estampas del Tamarindo que acompañan su obra las ha copiado de las obras de Guillermo Pisson, y de Jacobo Bontis, que escribieron en el Brasil. Aconseja tomar una infusión mezclada con Sén y otras plantas según el caso, cito: *purga poderosamente la colera y melancolia por abajo,..... Tamarindos con Ruibarbo y Sen..... á los que padecen fiebres pútridas y ardientes..... solos en infusión.... clarifica la sangre, quita la sed a los febricitantes, restaura el apetito perdido, y reprime con eficacia los incendios de la colera y sangre.....*

Nos dice Dobrizhoffer: *Los tamarindos que se conocen muy bien en las farmacias europeas, son una especie de ciruelas de un sabor algo agrio pero agradable, cubiertas de una cáscara parda y llenas de bellos y grandes granos Si se las deja por un tiempo en agua fresca, apagan no solo la sed más ardiente sino que purgan suavemente también el vientre....Los tamarindos que los botánicos denominan Dactili acidi (dátiles agrios), son oriundos del país de los Chiquitos y también de otras. En las demás regiones del Paraguay se desconocen.*

Henula campana ó Caá cambi guazú

Inula helenium

Siendo amarga recién arrancada de la tierra, al mes de cojida según Montenegro se torna más benigna y menos picante que el pelitre con quien la compara en su obra; según su opinión, cito: *por ser criada en el agua, ó á las orillas de los pantanos.....*

En cuanto a sus virtudes expresa: *La Henula cojidas sus raices cuando ella tiene sus tallos secos..... y en menguante de Luna, dura cuatro años para el uso de medicina para el asma y toz antigua, y para aquellos que padecen de crudezas y frialdad del estomago, higado y pecho, que es único remedio en arrancarlas materias gruesas y viscosas, que causan obstrucciones, y molestas ventocedades Quita la tristeza y melancolia, mayormente en las fiebres malignas y pestilentes.- Socorre á los mordidos de animales ponzoñosos, y venenosos, confortando el corazón y estomago.- Abre las vias de todo el cuerpo, y socorre á las punturas, y espasmos de nerbios.- Conserva la hermosura y rubor de todo el cuerpo. – Despierta la virtud genital y es veneno de los ratones.- Es de notable amargor y su semilla estregando alguna parte del cuerpo con ella, la enciende con gran comezon y ardor.*

No se describe en otras obras consultadas.

Virga aurea ó Mbuí miri, Ibotí yú

Virga aurea L.

Comienza su descripción Montenegro diciendo: *Crió la Divina Providencia en estas tierras de la America tanta copia de Virga-aurea..... herloseando los valles y campañas con su pomo dorado..... tomando de su flor recién cojida ... su cocimiento..... abre las vias de la orina, y saca los humores viscosos y gruesos que se hace la piedra de riñones y vejiga: conforta el estomago, y de paso mata las lombrices con natural amargura.... Tales medicinas se deja á la discrección del medico, su dosis, y modo de tomarlas, según la enfermedad del paciente,..... Sus raices hallo que los Indios las cojen para ayuda de camaras de sangre, que juzgan ser de gusano ó lombrices, y los mismos infieles la usan para lo mismo, según me dijo un medico de los Guanuosas. No lo he usado, ni sé sus buenos ó malos efectos.*

Según Dobrizhoffer hay varias especies de ella, siendo muy preciada y usada por los médicos de diferentes maneras. Agrega que él en Paraguay conoció una sola especie.

Árbol del Estoraque ó Aguay-guazú

Styrax sp.

No hay referencias sobre éste árbol en Materia Médica Misionera del P. Montenegro, en la obra de Sánchez Labrador, ni tampoco en la obra del P. Dobrizhoffer.

Este árbol pertenece a la Fam Steracynas, especie *Styrax reticulatum* y *Styrax ferrugineum*.

Contienen en sus troncos y ramas una resina aromática, que se recoge por incisiones. Con la corteza reciente se prepara un bálsamo. La resina es usada en los templos

La información que se da en el presente trabajo surge de la obra Botánica Médica Argentina, Tesis Doctoral de Domingo Parodi, del año 1881, editada por la Facultad Nacional de Ciencias Médicas.

Este árbol pertenece a la Fam Steracyneas, especie *Styrax reticulatum* y *Styrax ferrugineum*. Contienen en sus troncos y ramas una resina aromática, que se recoge por incisiones. Con la corteza reciente se prepara un bálsamo. La resina es usada en los templos a manera de incienso, y los empíricos preparan con la misma emplastos estimulantes y corroborantes.

Trementina del país ó Aicí ó Ici

Icica sp.

Las referencias sobre esta planta se extraen del trabajo de Tesis del Dr. Parodi, ya que P. Montenegro, Dobrizhoffer, ni Sánchez Labrador, lo mencionan en su obra.

Es un árbol que produce la resina Elemi-occidental, se confunden bajo esta denominación varios árboles resinosos de las Anacardiáceas, de los géneros *Icica amyris* y *bursera*; de esta última se extrae una resina con olor de incienso, que se emplea para sahumar los templos y habitaciones.

Ruibarbo

Rheum palmatum L.

No nos habla Montenegro sobre esta planta en su obra, si lo hace el P. Dobrizhoffer, que refiere: *El Rhabarbarum, en español ruibarbo, es la raíz de una planta del género de los lapathos.... Es repugnante al ser mascada y tiene olor aromático. En las diversas regiones de Paracuaria.... crece un ruibarbo que asemeja mucho al de Alejandría en color, sabor, olor y propiedad.... Oigo que los médicos prefieren el ruibarbo proveniente de las Indias Occidentales, Persia, Moscú y Tartaria, al de América.*

Verbena ó Yerba Sagrada

Verbena officinalis L.

Comienza el P. Montenegro la descripción de esta planta, haciendo una consideración sobre los motivos que lo impulsaron a colocar las estampas de las plantas en su obra, si bien en forma primigenia ésta no era su intención, aunque luego, su afán de ayudar en el reconocimiento de cada una de ellas y de que no se cometiera errores en su utilización por generales confusiones que él mismo observó se producían en su aplicación terapéutica, lo llevaron a cambiar de opinión. Continúa diciendo: *Hallanse de esta yerba en estas Doctrinas cuatro distintas especies..... La Verbena ó*

Yerba sagrada comun, son dos, macho y hembra, las cuales poseen una misma virtud; cocidas en aceite, ó fritas sus ojas después de machacadas, y untandose por espacio de tres dias la cabeza con él tibio, quita todos los antiguos dolores de cabeza, y restaura los cabellos perdidos, y establece los caducos y que se quieren caer, atajan las llagas que bñ cundiendo y el Fuego de San Antón ... Dase a beber contra las fiebres tercianas el tercer nudo con todas sus ojas, comenzando a contar de la raiz: y contra las quartanas el cuarto, y esto lo hace con mayor eficacia cojiendola el primer dia de Luna como lo muestra la experiencia es admirable remedio contra las fiebres malignas, y putridas.- Contra la Ictericia Cocidas sus ojas y aplicadas a forma de emplasto mitiga las hinchazones, y inflamaciones antiguas, y las llagas que bñ cundiendo, y mundifica las muy sucias.

No se describe en otras obras consultadas.

Carqueja ó Yaguáreté Caá

Baccharia sp.

Según Montenegro cuatro especies de ella se hallan en las regiones de estas Misiones, indica, cito: ... *la cuarta especie se halla por cerranias y que para el uso de llagas que requieren comer y extirpar carne fungosa es única, y aún para atajar corrupciones de hueso. La mejor Carqueja para el uso de medicina hallo ser la mayor,... Indica diferentes recetas para su aplicación a distintas enfermedades como ser: ... en la úlceras cabernosas, como en las cacohetes,.... y en las cancerosas, ... la cura aunque sea muy vieja y callosa, es el mejor lamedor de cuanto he experimentado para curar llagas del pecho, y sacar la materia por la boca: sean las causas externas de golpes, ó por empiema, ó por pericumonia, ó por haber quedado de alguna penetrante herida sangre estravasa, ó por llaga del pulmón.....- Su ojas verdes machacadas, y puestas á las llagas con gusanos los mata, y cura la llaga, y lo mismo hace con animales, que con hombres..... – No pretenda matar los gusanos internos con ella, dandola alguno por bebida, porque con la preparación pierde las partes corrosivas, y no se puede dar sin prepararla.... porque es tan seca, que mata á la larga, en dos meses ó menos con fiebre Etica.*

No se describe en otras obras consultadas.

Ajenjo pontico ó Sandia rogué miri

Artemisia sp.

Comienza el P. Montenegro refiriendo que existen en estas Doctrinas dos plantas tan parecidas en las hojas que solo se pueden distinguir por sus flores, color y olor; son ellas el Ajenjo pontico y la Artemisa, de hecho dibuja en una misma lámina las hojas de ambas plantas. En cuanto a sus virtudes medicinales nos refiere: ... *es único remedio en todas las pasiones de flaqueza y relajación de estómago,.... socorre á las pasiones y enfermedades del higado,..... y con su amargor mata las lombrices y gusanos:- provoca y purga los humores colerico por camara y orina, son muy amigos del higado, y gratisimos al estomago, por donde despiertan el apetito perdido No he visto por estas tierras el vulgar y ordinario axenjo de España, el cual con ser muy amargo y de ingrato olor es astringente, y poco amigo del estomago.....*

No se describe en otras obras consultadas.

Corolario

El Padre Guillermo Furlong con buen criterio comenta: *Sólo el día en que se hayan publicado los diversos códigos de medicina y botánica misionera que son aún inéditos, se podrá apreciar hasta que punto sus autores fueron, o no fueron originales, ya que es un hecho que hubo continuidad en esa labor por parte de los jesuitas, ampliando y corrigiendo los unos a los otros, en prosecución de un acierto mayor y mejor en todo lo referente a las necesidades curativas de la época.*

Los Jesuitas no realizaron solamente una labor evangelizadora, sino que también fueron exploradores, historiadores, boticarios y herboristas, médicos, matemáticos, arquitectos, escultores, maestros, protectores de los indígenas y mucho más, aportando un quehacer valiosísimo para la comunidad toda, tanto indígena, esclava, como españoles y criollos, formando una cultura distintiva; ocupándose afanosamente del arte de curar no solo las almas sino también los cuerpos de los afligidos. Sin lugar a dudas, la labor desarrollada por estos religiosos fue ímproba y dejó huellas imborrables en la cultura americana.

Según el decir del historiador Vicente D. Sierra, cito: **... la expulsión constituyó un hecho trascendental en cuanto significó la pérdida irreparable de una pléyade de eminentes valores espirituales, artísticos y científicos, y al mismo tiempo marcó un paréntesis sin solución de continuidad en el desarrollo de la alta cultura Argentina.**

BIBLIOGRAFÍA

Alonso Jorge R. *Tratado de Fitomedicina*. Isis Ediciones, Bs As Argentina. 1988.

Azara Félix: *Apuntes de varias cosas tendientes a esta provincia (del Paraguay) sacadas del P.S. Asperger exjesuíta de esas Misiones del Uruguay y Félix de Azara. Año 186?5*. Archivo General de la Nación.

Bertoni, M.: *La civilización guaraní, Parte III: conocimientos. La higiene guaraní y la medicina guaraní*, Editorial Ex-Sylvis, Buenos Aires, 1927. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica, UBA.

Bertoni, M.: *Medicinas y plantas medicinales usadas por los guaraníes*, Mundo Farmacéutico Argentino, tomo IV, pág. 303, 1927.

Bertoni, M.: *Las Plantas usuales del Paraguay y países limítrofes. Establecimiento gráfico. M. Brossa. Asunción*. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica, UBA.

Cignoli Francisco: *Historia de la Farmacia Argentina*. Editado por Librería y Editorial Ruíz. 1953.

Dobrizhoffer Martín s.j.: *1785. Historia de los Avipones*, Tomos I, II, y III. Traducción de Edmundo Wernicke; Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Humanidades, Departamento de Historia, Resistencia, Chaco, 1967, y Museo Etnográfico de Buenos Aires.

Domínguez, J. A.: *Contribuciones a la Materia Médica Argentina*, Buenos Aires. 1928.

Furlong Guillermo, s.j.: *Naturalistas Argentinos durante la Dominación Hispánica*. Tomo VII. Editorial Huarpe. 1948.

Furlong, G.: *Misiones y sus pueblos de guaraníes*, Buenos Aires. Biblioteca del Colegio del Salvador. 1962.

Furlong, G.: *Historia social y cultural del Río de la Plata. 1536-1810. Tomo I: El trasplante cultural: ciencia; Tomo II: el trasplante social.* Tipográfica Editora Argentina, Buenos Aires. 1969.

Inventario particular de los libros del Pe. Joseph Sánchez Labrador represados en ausencia suya, en este Colegio de la Asunción: 16 tomos manuscritos de diversas materias. Archivo General de la Nación, Temporalidades del Paraguay, XI-9-14-3.

Montenegro Pedro s.j. 1710. *Materia Médica Misionera.* Imprenta de la Biblioteca Nacional. 1945.

Pardal Ramón: *Medicina Aborígen Americana,* Biblioteca del Americanista Moderno. Sección C, Tomo III. 1937.

Parodi Domingo: *Contribuciones a la flora del Paraguay.* Imprenta de Pablo E. Coni. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. 1877.

Paula A. y Maeder E.: *Manzana de las Luces. Procuraduría de Misiones. Siglo XVIII.* Editado por el Instituto de Investigaciones Históricas de la Manzana de las Luces. 1991.

Perkins de Piacentino Ana María y Yeyati H., en representación de la Universidad J. F. K.: *Misiones Jesuíticas: Las Boticas en las Misiones Jesuítico-Guaraníes.* Trabajo de investigación presentado en el 34 Congreso Internacional de Historia de la Farmacia. Florencia, Italia. 1999.

Perkins de Piacentino Ana María: *Misiones Jesuíticas: La Primera Botica de la Ciudad de Santa María de Buenos Ayres. Virreinato del Río de la Plata.* Trabajo de investigación presentado en el 36 Congreso Internacional de Historia de la Farmacia. Sinaia, Rumania. 2003.

Perkins de Piacentino Ana María: *Misiones Jesuíticas: Inventario de la Botica de la Ciudad de Santa María de Buenos Ayres.* Trabajo de investigación presentado en el 37 Congreso Internacional de Historia de la Farmacia. Edimburgo, Escocia. 2005.

Perkins de Piacentino Ana María: *Misiones Jesuíticas: Drogas Autóctonas Americanas Encontradas en la Botica de la Ciudad de Santa María de Buenos Ayres.* Trabajo de investigación presentado en el 38 Congreso Internacional de Historia de la Farmacia. Sevilla, España. 2007.

Perkins de Piacentino Ana María: *Códices y Herbarios Jesuitas: Análisis Comparativo entre el Trabajo de Pedro Montenegro y Segismundo Asperger.* Trabajo de investigación presentado en el 40 Congreso Internacional de Historia de la Farmacia. Berlín, Alemania. 2011.

Sánchez Labrador: *La medicina del Paraguay natural.* Biblioteca de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA.

Soulés María, Garrido María de las Nieves, Arias Incollá, y Schenone Héctor: *Manzana de las Luces, Iglesia de Sn Ignacio. XVII – XX.* Editado por el Instituto de Investigaciones Históricas de la Manzana de las Luces. 1983.

SEMBLANZA DEL ACADÉMICO LUIS E. DIAZ

Me es muy ardua la tarea de sintetizar la semblanza de una persona particularmente dotada de talentos, tanto intelectuales como morales y más duro aún cuando esa persona es nada menos que un amigo y compañero laboral. Todos sabemos de un destino impotente, pero aceptar el hecho de que alguien de nuestro entorno ya no se encuentra entre nosotros, es algo penoso que no se asume fácilmente.

Aunque la partida de un amigo nos entristezca el alma, y nos deje un inmenso vacío, debemos seguir adelante y recordarlo con alegría. Nos resulta difícil aceptar que esa persona, con quien compartíamos tantos momentos y a quien confiamos tantas cosas ya no estará más en nuestra existencia.

Pero la muerte no nos roba a los seres queridos, al contrario, nos lo guarda y nos lo inmortaliza en el recuerdo. Lamentablemente la 1° noticia se obtuvo fríamente por lo señalado en la clásica pizarra al ingresar en la Facultad, hecho que podrá imaginar la gran impresión que ocasionó.

No es fácil lidiar con la desaparición de un amigo, si bien padecía de varios sufrimientos con tratamientos que no pudo superar, su partida nos fue inesperada, por lo que en esta semblanza nos concentraremos principalmente y en forma breve, a recordar los aspectos positivos de la persona ya que no se trata de una trayectoria científica de incorporación:

Se trata del Miembro Titular de nuestra Academia Luis E. Díaz nacido el 13-4-1952 y fallecido el 26-8-2014; luego de sus estudios primarios y secundarios en el Colegio La Salle, ingresó a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de UBA, donde se graduó en 1975 de Licenciado en Análisis Clínicos y de Bioquímico y en 1979 de Dr. En Bioquímica, con el tema "Síntesis de 2-aminometilbilanos y de porfirina de interés biosintético" con calificación sobresaliente. Su carrera académica la inicia en 1972 como ayudante de 2da. En la orientación de Química Orgánica II de esta Facultad y luego como ayudante de 1ra. En Química Orgánica III, pasando a la orientación fitoquímica en 1976 donde en 1981 se lo designa Profesor Adjunto interino de la orientación Química Analítica Instrumental. Desde este año a 1983 el CONICET le otorga una beca para los Estados Unidos en la Universidad de Utah para trabajar en el tema "Resonancia Magnética Nuclear de Alta Resolución en Fase Sólida" y a su regreso es designado Investigador Adjunto en esa Institución y Profesor Adjunto Ordinario con dedicación exclusiva en 1984, en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, así como Investigador Independiente del CONICET. En nuestra universidad, atravesó los distintos grados de la docencia, así como el de Profesor Consulto en ese mismo año en los Estados Unidos y en 1985 en Brasil, hasta llegar a 1994 como Profesor Titular Ordinario con dedicación exclusiva en la orientación Química Analítica Instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de UBA. Desde esta posición en 1995 se lo designa como Director a cargo de LANAIS RMN 300 F. En 1994 es Miembro Fundador de la Unidad de Vinculación con el Instituto Tecnológico Chascomús (INTECH).

Participó en numerosos cargos de gestión de la Universidad, como Miembro de diferentes Comisiones, de Jurados de personal docente, de categorizaciones, de tesis, asesor forense del Poder Judicial de la Nación, Director –liquidador del programa de Investigaciones Bioorgánicas del CONICET (PRIBIOR), ETC.

Presentó a Congresos, Simposios Nacionales e Internacionales, numerosos trabajos así como publicaciones originales en revistas de primer nivel.

En la formación de Recursos Humanos participó con numerosos personal docentes, becarios y tesistas, promoviendo la incorporación de varios de ellos al CONICET y a la carrera docente universitaria.

En 2002 fue nombrado Director de Departamento de Química Analítica y Físicoquímica de nuestra Facultad y en mayo de 2004 fue designado Miembro Académico Titular de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.

Desde el año 2000, hasta la fecha fue merecedor de la dirección de diversos proyectos de investigación de la Universidad de Buenos Aires, CONICET y Agencia promotora de ciencia y tecnología.

En 2013 fue designado Profesor Titular Plenario en su departamento; Luis Díaz creó un excelente grupo de trabajo para la labor científica, transformándose en un faro para los integrantes del mismo, sobre todo en los diferentes proyectos de trabajo y subsidios que obtuvo. Fue un hombre de convicciones firmes y de talante pacífico, vivía solo para su quehacer científico y para su familia que lo acompañó en todos los momentos

de su evolución, pues consideraba a la misma una brújula de guía y la inspiración para su desarrollo. Muy buen hijo que recordaba con anécdotas a sus queridos padres, a quienes ayudaba en su labor cotidiano en su juventud, tenía un hermano mayor, profesor de nuestra casa quien lo guiaba en su quehacer académico, y podemos también afirmar, apoyado por una excelente esposa, también colega, padre de tres hijas recientemente graduadas en nuestra universidad como arquitecta, abogada y médica. Fue un joven abuelo de dos nietos que enriquecían su estar y si bien al decir de un poeta, no tenía aún plata en sus cabellos, disponía para ellos, de oro en su corazón.

No obstante, él mismo a pesar de su duro trabajo, nunca dejó de lado el apoyo que brindó a todos ellos, así como a sus alumnos, compañeros y amigos; por tal razón, frente a esta ausencia, solo podemos decir:

Luis, Requiescat in pace

Acad. Miguel D'Aquino