

**SAFE**  
**RESUMENES DE LAS COMUNICACIONES ORALES**

**FARMACOLOGIA I**

**387. Papel de los prostanoides en las alteraciones vasculares de ratas diabéticas tipo I y tipo II.** Horacio Peredo, Edda Adler-Graschinsky

*Instituto de Investigaciones Farmacológicas, CONICET, Buenos Aires.*

La diabetes mellitus es una patología en la que son frecuentes las complicaciones vasculares. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el estado funcional del lecho mesentérico aislado y perfundido, evaluando las respuestas contráctiles a la noradrenalina y la producción de prostanoides (PR) en ratas con diabetes experimental de tipo I (insulino dependiente, DI) y tipo II (insulino independiente, DII) y sus controles respectivos. La DI se indujo mediante estreptozotocina (STZ) 60 mg/kg a las 8 semanas de edad y los animales se sacrificaron a las 8 semanas posteriores. La DII se indujo con STZ 100 mg/kg a los 2 días de edad, y los animales fueron sacrificados a las 16 semanas posteriores. En los animales DI la glucemia fue de  $380 \pm 18$  mg/dl y el peso corporal de  $257 \pm 12$  g (control:  $112 \pm 9$  y  $389 \pm 22$ , respectivamente,  $p < 0,05$ ) y en los DII, glucemia  $119 \pm 12$ ; peso  $348 \pm 18$  (control:  $117 \pm 6$  y  $397 \pm 17$ , n.s.). La respuesta contráctil del lecho mesentérico a la noradrenalina (NA, 2, 10 y 30 nmoles) no se modificó en ninguno de los dos modelos de diabetes con respecto a sus controles. La indometacina (IND, 10  $\mu$ M, inhibidor de la síntesis de PR), redujo en un 50% ( $p < 0,05$ ) la respuesta en los animales controles y DI, pero no la modificó en los DII. En cuanto a la producción de PR, tanto en los animales DI como DII se observó una disminución ( $p < 0,01$ ) de todos los metabolitos con respecto a sus controles. Se concluye que la disminución en la producción de prostanoides en ambos modelos sugiere que estos compuestos podrían constituir un indicador de daño vascular en la diabetes. Por otra parte, el hecho de que la regulación de la contracción a la NA por IND sólo se altere en la diabetes tipo II indicaría mayores alteraciones vasculares en este modelo, aún en ausencia de cambios significativos en el peso corporal y en la glucemia.

**388. Participación del óxido nítrico en el metabolismo de glucosa en útero de ratas prepúberes.** Ana Finkelberg, Norma Lanfri, Jorge Linares, Adolfo Goldraj

*Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.*

Trabajos previos demuestran que la restricción alimenticia del 50% durante 25 días (DR) en animales prepúberes de 21 días, interrumpe el desarrollo, manteniendo la inmadurez sexual. La producción  $^{14}\text{CO}_2$  a partir de  $\text{U}^{14}\text{C}$ -glucosa en DR se incrementa en relación a controles bien alimentados que alcanzan la madurez sexual, en diestro (C)  $13.63 \pm 1.12$ ;  $n=20$  y  $7.26 \pm 0.53$   $n=15$ ,  $P < 0.05$ . Un hecho similar ocurre cuando el animal recibe alimentación normal por 10 días y no alcanza la madurez sexual (IN)  $10.44 \pm 0.56$ ,  $n=12$ . Para evaluar la posible participación de óxido nítrico (ON), se analiza el efecto de drogas capaces de regular los niveles de (ON) sobre el metabolismo de glucosa, en útero aislado de ratas prepúberes (DR) e (IN). En (DR), el agregado al medio de bloqueantes del (ON), no disminuye la captación de

$^{14}\text{CO}_2$  a partir de  $\text{U}^{14}\text{D}$ -glucosa. Un efecto similar se produce en (IN). Un dador exógeno de (ON) como Nitroprusiato de sodio (NPS), así como un sustrato para la NOS como L-Arginina (A) incrementa el metabolismo de la glucosa en (DR):  $20.22 \pm 1.9$ ;  $n=10$ ;  $20.54 \pm 2.2$ ;  $n=9$ . Por el contrario, en (IN) la adición de (NPS) disminuye el metabolismo de la glucosa:  $7.79 \pm 0.68$ ;  $n=8$ , no así la (A), que lo mantiene elevado. Se concluye que la participación del (ON) sobre el metabolismo de la glucosa es diferente según la inmadurez se deba a la DR o al desarrollo natural del animal (IN).

**389. Citoarquitectura y orientación de las fibras nerviosas y de los pituicitos en las zonas periféricas de la neurohipófisis.** Luis Voloschin, Mario Bilinski, María Gallardo, Juan Tramezzani

*Instituto de Neurobiología, Buenos Aires.*

Con la finalidad de estudiar las fibras nerviosas que transcurren en las zonas periféricas de la neurohipófisis hemos realizado un análisis topográfico, utilizando métodos inmunohistoquímicos y de microscopía electrónica en cortes orientados espacialmente. Las imágenes de microscopía electrónica revelan la presencia de prominentes haces de fibras nerviosas, tanto en la zona adyacente a la pars intermedia (junction zone), como en el borde superior del lóbulo neural. Estas fibras tienen una citoarquitectura diferente a la que tienen las fibras que se encuentran en la región central. Algunas fibras que transcurren junto a la pars intermedia penetran luego en el interior del lóbulo neural. Entre las fibras se observan pituicitos de forma chata y fusiforme con largos procesos citoplasmáticos. La inmunotinción mostró que los pituicitos de las zonas periféricas de la neurohipófisis se encuentran orientados en forma laminar acompañando a las fibras nerviosas. En las zonas centrales del lóbulo neural los pituicitos exhiben una morfología muy irregular y no se disponen en forma laminar, excepto alrededor de los vasos. En la rata recién nacida no se pudo observar una orientación espacial ordenada de los pituicitos en las zonas estudiadas. También llama la atención la poca cantidad de pituicitos fusiformes y la ausencia de procesos citoplasmáticos pronunciados en los animales recién nacidos. Los resultados muestran que en la periferia de la neurohipófisis de la rata adulta existen fibras nerviosas con una citoarquitectura diferente a la que se observa en las regiones centrales. Los pituicitos que las acompañan tienen una orientación laminar. La ausencia de orientación laminar en los pituicitos del neonato indica que la citoarquitectura de la zona periférica de la neurohipófisis cambia durante el desarrollo sugiriendo modificaciones funcionales.

**390. Función de las glándulas submaxilares en la respuesta hipotalámico-hipofisaria a la infección.** Alejandro Lomiczi<sup>a</sup>, Claudia Mohn<sup>b</sup>, Lisandro Fernández Collazo<sup>b</sup>, Valeria Rettori<sup>b</sup>, Juan Elverdin<sup>a</sup>

*<sup>a</sup>Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología Universidad de Buenos Aires. <sup>b</sup>Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos CONICET, Buenos Aires.*

Las glándulas submaxilares (GSM) se las ha implicado como un órgano clave en la intrincada red neuro-inmuno-regulatoria. El objetivo del presente trabajo fue determinar la participación de las GSM en el eje hipotalámico-hipofisario ante una infección

sistémica aguda. Se estudió el efecto de la inyección de lipopolisacáridos (LPS) (5mg/rata i.p.) por 6hs en animales SHAM y sialectomizados (SIAL) sobre la secreción de LHRH hipotalámica (HMB) *in vitro*, y LH plasmática, medidas por RIA y los niveles de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> plasmáticos como índice de la endotoxemia. Se determinó el efecto de SIAL sobre el consumo de alimento y agua. La secreción de LHRH disminuyó por efecto del LPS (SHAM=9,83 ± 0,67 pg/HMB; SHAM+LPS=6,37 ± 0,43; p<0,01), la SIAL potenció el efecto de LPS sobre LHRH SIAL+ LPS= 4,04 ± 0,56; p<0,05). El LH plasmático disminuyó por acción de LPS (SHAM=20,87 ± 3,79 ng/ml; SHAM+LPS=8,76 ± 0,87; SIAL +LPS 10,1 ± 1,41; p<0,05). Los NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> plasmáticos (SHAM= 1,89 ± 0,25 µM) aumentaron por acción de LPS (SHAM+LPS= 9,33 ± 1,15; p<0,001) y se potenciaron en el grupo LPS+SIAL (12,87 ± 1,38; p<0,001). En ningún caso se vieron diferencias entre SHAM y SIAL. El consumo de alimento y agua disminuyó en ambos grupos durante las primeras 24 hs post operación pero se recuperó a las 48 hs. Estos resultados indican que las GSM tienen un rol protector en la respuesta hipotálamo-hipofisaria a la infección aguda.

### 391. Regulación de la producción del óxido nítrico en la preñez en la rata. Mariana Farina, María Laura Ribeiro, Diego Ogando, Martha Gimeno, Ana Franchi

CEFYBO, CONICET, Buenos Aires.

El óxido nítrico (NO) es una molécula multifuncional que media numerosos procesos fisiológicos. Se ha demostrado que el NO tiene un efecto relajante del miometrio, y se ha postulado que estaría involucrado en el mantenimiento de la quiescencia del útero durante la preñez. Se estudia en este trabajo la producción del NO por el útero de rata preñada en distintos días de gestación (5,13 y 21). La síntesis de NO, medida por la técnica de Bredt y Snyder; es máxima el día 13 (121901+1230 cpm/100mg p.h.) y mínima el día 21 (75901 + 1003). Cuando los tejidos se preincubaron con un inhibidor de la NO sintasa-Ca independiente se observa que la producción de NO disminuye en los días 5 (47%) y 13 (52%), sin verse afectada el día 21. Se cuantificó la producción de NO por la NO sintasa-Ca independiente, encontrándose que ésta representa el 47% el día 5, el 58% el día 13 y que era no detectable el día 21. La preincubación de los tejidos con L-NAME (300µM) produjo una disminución de la síntesis de NO de 45%, 67 y 59% los días 5, 13 y 21 respectivamente; no observándose diferencias con los controles cuando la preincubación se realiza con D-NAME (300 µM): Estos resultados muestran que la producción de NO disminuye al final de la preñez y que tanto la NOS-Ca dependiente como la independiente participan en su síntesis.

## FARMACOLOGIA II

### 392. Vasodilatación inducida por nitroderivados en vena umbilical humana. Verónica Rey Ares, María Pía Rogines Velo, Karina Breitburd, Rocio Tempelman, Rodolfo Rothlin

3° Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Dado que la vena umbilical humana (VUH) perfunde al feto, se consideró relevante analizar el efecto de los nitroderivados. Se emplearon anillos de vena incubados en solución de Krebs a 37°C, burbujeados con carbógeno. Transcurridas 2 horas de incubación se obtuvo una contracción submáxima con CIK (40mM) ó serotonina (5-HT, 30nM) ó U-46619 (10nM, agonista tromboxano-mimético), sobre la cual se realizó una curva concentración-respuesta acumulativa a nitroprusiato de sodio (NPS). La relajación máxima producida por el NPS fue significativamente mayor sobre la precontracción con CIK que con 5-HT (CIK: 75 ± 9%; 5-HT: 51±6%, n=8; P<0,05). Por otro lado, la respuesta a NPS fué más potente en los anillos precontraídos con CIK que con U-46619 (pCE<sub>50</sub> CIK: 7,2 ± 0,2; pCE<sub>50</sub> U-46619: 5,7 ± 0,1; n=8; P<0,05), sin observarse diferencias en la relajación máxima. Además, las relajaciones máximas producidas por NPS fueron antagonizadas por ODQ (1 µM), inhibidor de la guanilato ciclasa (NPS control:

48 ± 8%; +ODQ: 32 ± 9%, n=5; P<0,05) y potenciadas tanto por IBMX (10 µM), inhibidor inespecífico de fosfodiesterasas, como por sildenafil (10 µM), inhibidor de la fosfodiesterasa V (NPS control: 60 ± 4%; +IBMX: 74 ± 4%, n=18, P<0,05; NPS control: 80±1%; +sildenafil: 91 ± 5%, n=5, P<0,05). Los resultados obtenidos indican que: 1) Los nitroderivados relajan significativamente la VUH; 2) Esta vasodilatación es dependiente de la activación de la guanilato ciclasa; 3) La actividad de la/s fosfodiesterasa/s modula/n esta respuesta vasodilatadora.

### 393. Isoproterenol regula la transcripción de una Acil-Coa Tioesterasa que libera Acido Araquidónico. Isabel Neuman, Paula Maloberti, Constanza Lisdero, Gabriel Cracovski, Juan José Poderoso, Ernesto Podestá

Departamento de Bioquímica Humana y Laboratorio del Oxígeno. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

En nuestro laboratorio se ha caracterizado y secuenciado una proteína novel de tejido adrenal de rata que pertenece a una nueva familia de enzimas con actividad de acil-CoA tioesterasa que interviene en la esteroidogénesis a través de la regulación de la liberación de ácido araquidónico. Esta proteína ha sido denominada ARTISt (Arachidonic acid- Related Thioesterase Involved in Steroidogenesis) y ha sido detectada tanto en tejidos esteroideogénicos como no esteroideogénicos (corazón, hígado y riñón), postulándose como una vía alternativa de regulación del ácido araquidónico intracelular. El objetivo de este trabajo fue estudiar la regulación hormonal en tejido cardíaco. En corazón aislado de rata se detectaron dos transcritos de 3,5 y 2,6 kb. Isoproterenol (10<sup>-7</sup> M) incrementó la presencia del transcrito entre 2 a 4 veces luego de 15 minutos de perfusión del corazón aislado. Este efecto fue inhibido cuando las ratas fueron inyectadas con actinomicina D (500 µg/kg) 45 minutos antes del sacrificio. Isoproterenol también produjo una activación de la enzima dosis-dependiente entre 10<sup>-6</sup> y 10<sup>-9</sup> M, mientras que la perfusión previa con propranolol 10<sup>-5</sup> M produjo un bloque de la estimulación. Estos resultados sugieren que ARTISt también es regulada hormonalmente en tejidos no esteroideogénicos, apoyando la hipótesis que los niveles de ácido araquidónico pueden estar regulados hormonalmente a través de la activación de ARTISt.

### 394. Estudio farmacocinético poblacional de oxcarbamazepina. Guillermo Bramuglia, María Sarabia, Silvana D'Allea, Alejandra, Bresas, María Belén, Viaggio, Alfredo Thomson

Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Buenos Aires; Servicio de Neurología, Hospital Francés, Buenos Aires.

Debido a que existen pocos estudios poblacionales que involucren a pacientes ambulatorios, el objetivo de este trabajo fue el realizar un estudio retrospectivo en pacientes medicados con el anticonvulsivante oxcarbamazepina (OX). Información acerca del peso, edad, sexo, altura, y medicación concomitante fue recolectada de 38 pacientes medicados con OX; así como también datos sobre el régimen de dosificación, hora de la última toma del medicamento, y hora de la toma de muestra de sangre para la determinación de los niveles plasmáticos de OX. También se obtuvieron los valores de los niveles plasmáticos de OX que oscilaron entre 6,2 y 25 µg/ml. El aclaramiento plasmático de la OX (Cl) así como la Ke fueron calculados de acuerdo a un modelo farmacocinético monocompartmental en estado de equilibrio (Ke: 0.070 ± 0.003 1/h; Cl: 2.79 ± 0.11 L/h) Los valores de F (biodisponibilidad), y volumen aparente de distribución (VD) fueron obtenidos de literatura. Los distintos valores individuales se analizaron mediante histogramas de frecuencia que muestran la distribución de los parámetros farmacocinéticos en la población. Estos estudios serían de utilidad para el diseño y ejecución óptimo de estudios poblacionales con programas como NONMEM y NPEM, que analizan los datos en una sola etapa.

**395. Perfil cinético y dinámico de metildopa en el SNC de ratas con coartación aórtica.** Javier Opezzo, Christian Höcht, Guillermo Bramuglia, Carlos Taira

*Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires*

Se efectuó un estudio cinético acerca de la acumulación del antihipertensivo metildopa (MD, 50 mg/kg ip) en el estriado y en el hipotálamo posterior de ratas con coartación aórtica (CoA) y su efecto sobre el metabolismo dopaminérgico hipotalámico y estriatal utilizando la técnica de perfusión por microdialisis. Se utilizaron ratas Wistar (250-350g) con CoA o con una operación simulada (OS) anestesiadas. Una sonda de microdialisis fue insertada en el estriado o en el hipotálamo posterior. Se recolectaron muestras de dializados cada 15 min. En los dializados se determinó metildopa y DOPAC, éste como indicador del metabolismo dopaminérgico. Los dializados estriales mostraron que en las ratas OS, la MD alcanzó una concentración estable durante toda la recolección. En los dializados de las CoA se observó una menor acumulación y una rápida desaparición de la MD. En dializados de hipotálamo posterior del grupo CoA se observó una mayor acumulación y una mayor concentración máxima. El efecto de la MD sobre los niveles de DOPAC en los dializados de hipotálamo fue distinto para el grupo CoA que para el grupo OS, mientras que sobre los niveles estriales fue el mismo. En conclusión, en el SNC de las ratas CoA habría una alteración de la neurotransmisión catecolaminérgica que se ve reflejada en los diferentes perfiles de acumulación de la metildopa así como su efecto sobre el metabolismo dopaminérgico.

**396. Efecto de metotrexato y filgrastim sobre progenitores granulopoyéticos GM – CFU en murinos.** Lilian Barrios, Oscar Poletti, Cecilia Alegre, Sebastián Genero, Zulma Villalba.

*Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.*

La neutropenia limita la administración de drogas antineoplásicas y el filgrastim (rhG-CSF) es empleado para disminuir este efecto adverso. Investigamos en murinos el efecto de metotrexato (MTX) y filgrastim, en dosis y esquema de aplicación similar al usado en pacientes, sobre la población de GM-CFU femoral y esplénica en un ciclo de 28 días. A ratones CF1 hembras se administró 7mg/kg de MTX los días 0 y 7. Los días 8 a 28 se administró 30ug/kg/día de filgrastim. Lotes control se inyectaron con diluyente. Se estudió la población de GM-CFU femoral y esplénica en cultivos en medio semisólido de 8 días de duración. A nivel femoral, cada dosis de MTX aumentó el número de GM-CFU, efecto seguido de una disminución compatible con liberación de estos progenitores a sangre periférica. El agregado de filgrastim anticipó la respuesta de la 2ª dosis de MTX. A los 28 días, el número de GM-CFU en los lotes control y problema estaba aumentado con respecto a hora 0. En bazo se observó un aumento de GM-CFU entre los días 12 y 16 y a los 28 días, resultado compatible con un anidamiento de las GM-CFU provenientes de la migración medular. A los 28 días el número de GM-CFU esplénicas en los lotes tratados con MTX fue similar a hora 0, mientras que el agregado de filgrastim mantuvo su número elevado. Concluimos que MTX moviliza GM-CFU de médula a bazo, y, al final de 1 ciclo de 28 días, no se detecta efectos tóxicos de MTX sobre este progenitor granulopoyético.

**397. Efectos de doxorubicina sobre la granulopoyesis en murinos.** Lilian Barrios, Oscar Poletti, Sebastián Genero, Cecilia Alegre, Natalia Cocco

*Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes*

La intensificación de dosis de drogas antineoplásicas está limitada por sus efectos adversos. Uno de los efectos adversos importantes de la doxorubicina es la mielodepresión. Investiga-

mos en murinos el efecto de doxorubicina sobre la granulopoyesis, en un ciclo de estudio de 16 días. Se administró filgrastim, para estudiar la capacidad funcional de respuesta de los órganos granulopoyéticos. A ratones CF1 hembras se administró 7 mg x kg de doxorubicina el día 0. A partir del día 1 y hasta el final del experimento se administró 30 ug/kg/día de filgrastim. Lotes control se inyectaron con diluyente. Se estudiaron neutrófilos periféricos y las poblaciones granulocíticas de médula femoral y esplénica los días 0,4,8,12 y 16. Llamativamente la doxorubicina produjo un aumento de neutrófilos circulantes los días 8 a 12 (probablemente indicando una diferencia de especie en la toxicidad de la droga). La administración de filgrastim aumentó en forma sostenida los neutrófilos desde el día 8 y hasta el final del experimento. Sin embargo el filgrastim no fue capaz de estimular la granulopoyesis medular femoral (efecto que sí se observa en murinos y seres humanos normales) y el aumento de neutrófilos periféricos por efecto del filgrastim se debió a un aumento de granulopoyesis esplénica. Concluimos que la doxorubicina disminuye la capacidad funcional granulopoyética medular, favoreciendo la granulopoyesis esplénica.

### FARMACOLOGIA III

**398. Distribución tisular y difusión de albendazole a helmintos en ovinos.** Luis Alvarez, Lourdes Motier, Fernanda Imperiale, Guillermo Virkel, Alejandra Pis, Carlos Lanusse

*Area Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, U.N.C.P.B.A., Tandil.*

Albendazole (ABZ) es el único fármaco antihelmíntico con actividad sobre nematodos, trematodos y cestodos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la distribución tisular de ABZ y su metabolito activo ABZ-sulfóxido (ABZSO) y la difusión de los mismos a un nematode (*Haemonchus contortus*), trematode (*Fasciola hepatica*) y cestode (*Moniezia* spp.). Se investigó además, la proporción de los enantiómeros (+) y (-) de ABZSO recuperada en el material parasitario. Animales infectados con los mencionados parásitos fueron tratados con ABZ (7.5 mg/kg). De cada grupo, se sacrificaron animales a diferentes tiempos post-tratamiento, obteniéndose de los mismos muestras de material parasitario y de los tejidos/fluidos en que éstos se encuentran localizados (fluido abomasal e intestinal, mucosa abomasal, hígado, bilis y plasma). Las concentraciones de ABZ y ABZSO se determinaron por HPLC. El metabolito ABZSO fue la molécula detectada en mayor cuantía en los diferentes fluidos/tejidos analizados, como así también en *F. hepaticas* recuperadas del conducto biliar de los ovinos tratados. El compuesto (+) ABZSO fue la forma enantiomérica recuperada en mayor proporción en el interior de este trematode (74%), al igual que en plasma (75%) y bilis (78%). Contrariamente, ABZ droga madre fue el principal componente recuperado en el interior del parásito nematode de ubicación estomacal y del cestode de localización intestinal. La mayor concentración de ABZ en estos helmintos se correlaciona con una mayor difusión a través de la cubierta externa facilitada por su elevada liposolubilidad.

**399. El péptido natriurético tipo C alcaliniza la bilis y reduce el flujo biliar y la velocidad de excreción de electrolitos y ácidos biliares.** Liliana Bianciotti, Eugenia Sabbatini, Cristina Vescina, Marcelo Vatta, Belisario Fernández

*Cátedras de Fisiopatología, Fisiología y Química Analítica, FFyB, UBA, CONICET, Buenos Aires.*

Habíamos observado que la administración del factor natriurético atrial (ANF) por vía endovenosa (ev) o intracerebroventricular (icv) modifica el flujo y la composición de la secreción biliar en la rata (Regul. Peptides 43, 177-184, 1993, Medicina 56, 5/2,555,1996). Como el CNP es el principal péptido natriurético en el SNC, decidimos investigar sus efectos sobre la secreción biliar en la rata Sprague Dawley, administrándolo icv en ventrículo lateral (1,10 y 100 ng/µl), recogiendo muestras de los conductos

biliares. El flujo biliar ( $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ ) disminuyó a los 15 min (100 ng), 30 min (10 y 100 ng), 45 min (10 y 100 ng) y 60 min (100 ng). La velocidad de excreción (VE) del sodio ( $\text{mEq}/\text{min}/100\text{g}$ ) disminuyó a los 15 min (100 ng), 30 min (10 y 100 ng), 45 min (1,10 y 100 ng) y 60 min (10 y 100 ng), la del potasio a los 15 min (100 ng), 30 y 45 min (10 y 100 ng) y 60 min (10 y 100 ng), la de los cloruros a los 15, 30 y 45 y 60 min (100 ng), los ácidos biliares ( $\mu\text{Mol}/\text{min}/100\text{g}$ ) a los 15 min (1,10 y 100 ng), 30 min (10 y 100 ng) y 45 y 60 min (100 ng). El pH se incrementó a los 15 (1,10 y 100 ng), 30, 45 y 60 min (10 y 100 ng). Todos los resultados fueron significativos con una  $p < 0.05$  con respecto a los controles. La administración central (icv) de CNP alcalinizó la bilis y disminuyó el flujo y la VE de los electrolitos y de la fracción ácido biliar dependiente, mostrando efectos similares a la administración central o periférica del ANF.

#### 400. Hipoxia perinatal y proteínas del complejo SNARE durante el desarrollo. Susana Valdez, Sean Patterson y Alicia Seltzer

*Ex Laboratorio de Investigaciones Cerebrales y Cátedra de Fisiología Normal. FCM. UNC. Mendoza.*

La hipoxia perinatal ocasiona disfunciones neurológicas y comportamentales sin cambios morfológicos aparentes en el cerebro. Describimos los patrones de inmunoreactividad (IR) de proteínas involucradas en la transmisión sináptica y en la neuroplasticidad durante el desarrollo, luego de una hipoxia y en comparación al patrón normal. **Métodos:** Crías de rata en día 4 postnatal (4PN) fueron sometidas a una atmósfera de 93.5%  $\text{N}_2$ -6.5%  $\text{O}_2$  durante 70 min. y se sacrificaron 7, 14, 22 y 36 días post tratamiento. Se prepararon fracciones P2 de corteza cerebral (C.c.) e hipocampo (Hp). La inmuno-reactividad se determinó por Western Blot utilizando los anticuerpos monoclonales a proteínas del complejo SNARE, y a GAP43. El control histológico de la lesión se realizó con la técnica Cu-Ag (De Olmos y col.) y HE. **Patrón normal:** En la C.c. y Hp la IR a GAP43 prevalece durante la primera etapa del desarrollo. Sinaptobrevina (SYB) y SNAP25 en la C.c. alcanzan un máximo al día 20PN y todas decrecen al día 40. En el Hp aumentan sostenidamente. **Patrón hipóxico:** En el Hp, SYN presenta un aumento de 4 veces respecto al control al día 14PN. SNAP y SYB también están aumentadas. Al día 22PN los valores se normalizan. La hipoxia moderada produciría interferencias en la transmisión sináptica durante el desarrollo.

#### 401. Acción directa del Etanol sobre el ovario de rata. Christian Perotti, Valeria Rettori, Alicia Faletti

*Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos. CONICET, Buenos Aires.*

El abuso de ingesta de alcohol en humanos y animales de laboratorio altera los procesos reproductivos. Es conocido que el etanol inhibe la ovulación por su acción inhibitoria central. En este trabajo evaluamos el efecto directo del etanol (ETOH) sobre el ovario de la rata. Para ello utilizamos ratas prepúberes Sprague-Dawley (28-30 días) tratadas con PMSG/hCG para inducir su primera ovulación. Administramos distintas dosis de ETOH intrabursa 8 h post hCG y las determinaciones se realizaron 30 minutos después de la cirugía. La producción preovulatoria de prostaglandinas (PGs) ováricas aumenta a partir de las 4 h post hCG. La administración intrabursa de ETOH inhibió este aumento (PGE: Ctrl=112  $\pm$  12 vs ETOH=61  $\pm$  8 pg/mg,  $p < 0.01$ ). Este efecto fue revertido por la administración simultánea de un antagonista opiodeo, naltrexona (ETOH+Nal=94  $\pm$  8 pg/mg,  $p < 0.05$  vs ETOH). Previamente demostramos que la  $\beta$ -endorfina ( $\beta\text{E}$ ) inhibe el proceso ovulatorio de la rata por reducir la producción de PGs. Como la administración de hCG reduce la síntesis de  $\beta\text{E}$  endógena (Ctrl=23  $\pm$  2 vs hCG=13  $\pm$  1 pg/mg,  $p < 0.01$ ) y el etanol es capaz de estimular la formación de este péptido en distintos tejidos, creemos que los efectos inhibitorios producidos por el etanol sobre la ovulación de la rata pueden estar, al menos en parte, mediados por una acción local estimulando la producción ovárica de  $\beta\text{E}$ .

#### 402. Comparative Bioavailability of two fluconazole capsule formulation in human healthy volunteers. Federico Lerner<sup>1,2</sup> and Gilberto De Nucci<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Cartesius Analytical Unit, Sao Paulo University, Brazil.*  
<sup>2</sup> *Edyabe CRO, Buenos Aires.*

**Objective:** To compare the bioavailability of two fluconazole capsule formulations in 24 healthy volunteers of both sexes who received a single oral dose (150 mg). **Methods:** The study was conducted using an open, randomized, two-period crossover design with two-week washout interval. Plasma samples were obtained up to 168 h after drug administration and fluconazole concentrations were analyzed using electrospray tandem mass spectrometry coupled to liquid chromatography. The pharmacokinetic parameters obtained for fluconazole after the administration of each formulation included the  $\text{AUC}_{(0-168\text{h})}$ ,  $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ ,  $\text{C}_{\text{max}}$ ,  $\text{T}_{\text{max}}$ ,  $\text{K}_e$  and  $\text{T}_{1/2}$ . **Results:** The 90% confidence interval for the geometric mean of the individual ratio  $^{\text{TM}}/\text{Zoltec}^{\text{TM}}$  were 97.18 - 108.60% for  $\text{AUC}_{(0-168\text{h})}$ ; 90.87 - 111.11% for  $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ ; 104.88 - 114.88% for  $\text{C}_{\text{max}}$ , 90.38 - 136.79% for  $\text{K}_e$ , 91.87 - 108.93% for  $\text{T}_{1/2}$  and (-)1.5 - (-) 0.10 for  $\text{T}_{\text{max}}$  (for individual differences). **Conclusion:** Since, for both  $\text{C}_{\text{max}}$  or  $\text{AUC}$  the 90% CI are within the interval proposed by the *Food and Drug Administration*, we conclude that Fluc-BRA-001 is bioequivalent to Zoltec<sup>TM</sup> for both, the rate and the extent of absorption after single dose administration.

#### 403. Dependencia temporal del efecto de la ciclosporina sobre respuestas mitóticas y subpoblaciones linfocitarias de ganglios linfáticos y bazo de rata. Ana Esquifino, Agustín Arce, Laura Selgas, Daniel Cardinali

*Departamentos de Bioquímica, Universidad Complutense, Madrid y Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.*

A fin de estudiar cronofarmacológicamente la actividad inmunosupresora de la ciclosporina en bazo y ganglios linfáticos de rata se utilizaron como indicadores la respuesta a mitógenos y la determinación de subpoblaciones linfocitarias mediante citometría de flujo. Las ratas recibieron inyecciones s.c. de ciclosporina (5 mg/kg) o vehículo durante 5 días a las 1200 o 2400 h, y 2 días antes del sacrificio, adjuvante de Freund o su vehículo. Se utilizaron preparaciones celulares de ganglios linfáticos submaxilares y bazo, obtenidas en condiciones estériles. Las respuestas mitóticas ante LPS y Con A fueron estudiadas a una concentración de 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Se detectó un efecto supresor de la ciclosporina inyectada a las 1200 h en bazo sobre la actividad mitogénica de LPS, expresada como índice de proliferación (ciclosporina vs. veh: 6,95  $\pm$  0,70 vs. 4,50  $\pm$  0,80,  $p < 0.05$ ). Los tamaños porcentuales relativos de poblaciones  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$  y  $\text{CD4}^+\text{-CD8}^+$  disminuyeron en el bazo de ratas inyectadas con ciclosporina a la 1200 h (ciclosporina vs. veh: 3,50  $\pm$  0,26 vs. 2,03  $\pm$  0,25; 15,30  $\pm$  2,40 vs. 9,90  $\pm$  0,46; 2,69  $\pm$  0,12 vs. 1,53  $\pm$  0,39, respectivamente,  $p < 0.05$ ). Un efecto semejante fue observado en ganglios linfáticos (ciclosporina vs. veh: 3,74  $\pm$  0,15 vs. 2,00  $\pm$  0,50 para  $\text{CD4}^+$ ; 23,00  $\pm$  1,38 vs. 14,77  $\pm$  1,70 para  $\text{CD8}^+$ ; 1,47  $\pm$  0,10 vs. 0,86  $\pm$  0,10 para  $\text{CD4}^+\text{-CD8}^+$ ,  $p < 0.05$ ). Estos resultados indican que la actividad inmunosupresora de la ciclosporina es máxima en la fase de reposo del ritmo diario en la rata.

### FARMACOLOGIA IV

#### 404. Los neuroesteroides modulan la proliferación de células granulares del cerebelo. Elizabeth Keller, Mónica Fiszman

*Laboratorio de Neurociencias, Centro de Investigaciones Médicas Albert Einstein, Buenos Aires.*

Trabajos previos del laboratorio demuestran que el sistema nervioso inmaduro de la rata y la placenta son capaces de sintetizar 5  $\alpha$ -pregnan-3  $\alpha$ -ol-20-ona -Alopregnanolona (ALO) o su isómero

5  $\alpha$ -pregnan-3  $\beta$ -ol-20-ona -Isopregnanolona (ISO). Con el objetivo de investigar el rol funcional de estos neuroesteroides en el desarrollo se evaluó el efecto de estos compuestos sobre la proliferación de las células granulares del cerebelo en cultivo. Métodos: Se diseccionaron cerebelos de rata de 6-8 días de edad y el tejido se sometió a digestión enzimática y mecánica de acuerdo a protocolos de uso corriente en el laboratorio (Borodinsky y Fiszman 1998, Dev. Brain Res. 107:43). La suspensión celular obtenida se sembró en diferentes condiciones de cultivo: en condiciones de reposo (5mM KCl) y en condiciones despolarizantes (25 mM KCl) en ausencia o en presencia de suero fetal bovino al 10%. La proliferación celular se determinó mediante la incorporación de timidina- $H^3$  y conteo celular a las 48 horas. Los resultados demuestran que tanto ALO como ISO, en concentraciones de 0,1, 1 y 10  $\mu$ M aumentan hasta un 25% la proliferación de las células granulares inmaduras con respecto a los controles. Este efecto se observa solo en suspensiones celulares sembradas con suero y en condiciones de reposo (5 mM KCl) y se acompaña con un aumento en el número de células a las 48 horas. Se concluye que los neuroesteroides tienen un papel en la neurogénesis regulando el número total de neuronas y que para realizar este efecto actúan en conjunto con una sustancia, quizás trófica, presente en el suero.

**405. El aumento de neuronas NADPH-diaforasa positivas en la médula espinal del Wobbler, modelo murino de neurodegeneración, es atenuado por un 21-aminoesteroide antioxidante.** M. Claudia González Deniselle, Susana González, Analía Lima, Alejandro De Nicola

*Instituto de Biología y Medicina Experimental, Departamento de Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Instituto Universitario de Ciencias de la Salud, Fundación Barceló, Buenos Aires.*

El ratón Wobbler (Wr) sufre una mutación autosómica recesiva que produce neurodegeneración y pronunciada astrogliosis en la médula espinal (ME), por lo cual es un excelente modelo de la esclerosis lateral amiotrófica. Previamente demostramos que las motoneuronas de ME de Wr hiperexpresan la proteína y ARNm de la GAP-43, siendo ambas disminuidas por el antioxidante U-74389F. En este trabajo empleamos técnicas histoquímicas y densitometría computarizada, para analizar la actividad de la NADPH-diaforasa (NADPH-d) en la ME de ratones controles, controles implantados con un pellet de 50 mg de U-74389F, Wr y Wr + U-74389F durante 4 días. En controles la actividad de NADPH-d se localizó en asta dorsal superficial, lámina X y asta intermedialateral, con débil marca en motoneuronas de asta ventral ( $0.33 \pm 0.02$  unidades densitométricas/area neuronal). El tratamiento con U-74389F no modificó la marca neuronal ( $0.26 \pm 0.04$ ). El Wr presentó actividad NADPH-d en asta dorsal, lámina X o asta intermedialateral en niveles similares al control. Sin embargo, se observó un aumento en la actividad en motoneuronas ( $0.70 \pm 0.014$ ,  $p < 0.01$  vs. controles), la cual se atenuó por U-74389F ( $0.44 \pm 0.08$ ,  $p < 0.01$  vs. Wr no tratados). La alta actividad de NADPH-d en Wr se colocó en motoneuronas positivas para GAP-43. Se sugiere que el esteroide antioxidante es neuroprotector, debido a la inhibición de la producción de NO por la hiperactividad de NADPH-d. Los datos indican el valor de esteroide antioxidantes para las enfermedades de motoneurona.

**406. Sensibilización a las propiedades estimulantes motoras de anfetamina: participación diferencial de áreas mesocorticolímbicas.** Alejandra Pachioni, Nancy Capriles, Liliana Cancela

*Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.*

Datos previos de nuestro laboratorio indican que la exposición a estrés agudo induce el desarrollo de sensibilización a las propiedades estimulantes motoras y reforzantes de anfetamina (ANF). Áreas pertenecientes a vías dopaminérgicas mesocorticolímbicas

están específicamente involucradas en la sensibilización a los efectos estimulantes motores de anfetaminas. Nuestro objetivo fue estudiar la participación de áreas dopaminérgicas: núcleo accumbens (NAcc), caudado putamen (CPU) y corteza media prefrontal (CPM) en la sensibilización inducida por estrés a los efectos estimulantes de ANF. Ratas macho Wistar (250-330g) fueron canuladas en: NAcc, CPU y CPM. Después de su recuperación, fueron administradas con vehículo o haloperidol (10  $\mu$ g/lado), e inmovilizadas (2 h) o dejadas en sus cajas hogar. A las 24 h, se evaluó la actividad locomotora luego de la administración de ANF (0.5 mg/kg i.p.), durante 120 min. El pretratamiento con haloperidol en NAcc y en CPU, revirtió la sensibilización inducida por estrés a los efectos estimulantes de ANF. En CPM, la administración del antagonista, no modificó la sensibilización motora inducida por estrés. Diferentes funciones han sido atribuidas a la activación de la neurotransmisión dopaminérgica en las áreas mesocorticolímbicas. Los resultados serán discutidos en relación a la relevancia de dichas funciones (motoras, motivacionales y/o cognitivas) en el desarrollo de sensibilización a los efectos estimulantes de ANF.

**407. Receptores GABA<sub>B</sub>: mecanismo de acción en hipofisis anterior de ratas en proestro.** Victoria Lux-Lantos, Estela Rey-Roldán, Damasia Becú-Villalobos, Astrid Chamson-Reig, María Bianchi, Carlos Libertun

*Instituto de Biología y Medicina Experimental - CONICET-ANPCyT-UBA, Buenos Aires*

La activación de receptores GABA B ánterohipofisarios por baclofén (BACL), inhibe *in vitro* la PRL basal o estimulada por TRH. Aquí determinamos el mecanismo de acción del BACL en células adenohipofisarias de ratas en proestro. Las células se obtuvieron por tripsinización y fueron sembradas en P96 (50.000 células/pocillo) para medir PRL ó incubadas con 2  $\mu$ M FURA 2AM para cuantificar el calcio intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ). BACL:  $1 \cdot 10^{-7}$  y  $1 \cdot 10^{-5}$  M inhibió significativamente la secreción de PRL, tanto en condiciones basales como estimuladas por TRH ( $1 \cdot 10^{-7}$  M) [PRL (ng/50.000 células): control:  $116 \pm 2$ , BACL ( $1 \cdot 10^{-5}$  M):  $97 \pm 3$ , TRH:  $148 \pm 8$ , TRH-BACL:  $122 \pm 4$ , ( $p < 0.05$ )]. En presencia de toxina Pertussis (PTX: 45 ng/pocillo, 20 h), inhibitoria de la proteína  $G_{i/o}$ , ambos efectos del BACL fueron abolidos, mientras que la inhibición inducida por dopamina (DA:  $1 \cdot 10^{-8}$  M) revirtió de un 70% a 25%,  $p < 0.01$ . BACL ( $5 \cdot 10^{-4}$  M) inhibió  $[Ca^{2+}]_i$  basal, aunque en menor medida que DA ( $5 \cdot 10^{-6}$  M) (Area  $[Ca^{2+}]_i$  basal: control:  $120 \pm 5$  vs BACL:  $60 \pm 7$  vs DA:  $-36 \pm 24$ ,  $p < 0.01$ ). El Cl<sub>Ba</sub> (200  $\mu$ M), antagonista de los canales de potasio, revirtió parcialmente la inhibición inducida por DA, sin afectar la de BACL,  $p < 0.05$ . El bloqueo de los canales de calcio voltaje dependientes (VSCC) con verapamil ( $5 \cdot 10^{-6}$  M) o nifedipina ( $1 \cdot 10^{-6}$  M) anuló la inhibición en  $[Ca^{2+}]_i$  inducida por BACL,  $p < 0.05$ . Estos resultados muestran que el receptor GABA B hipofisario estaría acoplado negativamente a los VSCC a través de proteínas G sensibles a PTX. Estas características lo hacen semejante al receptor GABA B tipo presináptico descrito en SNC.

**408. Diferenciación y maduración de la serie eritroide murina post-ciclofosfamida.** María Aguirre, Margarita Romero, Julián Juaristi, Roxana Carmuega, Mirta Alvarez Mirta, Nora Brandan

*Cátedra de Bioquímica, Instituto de Investigaciones Biofarmacológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.*

En la eritropoyesis Lajtha y Schofield precisaron los conceptos de diferenciación y maduración. Se define la diferenciación por la expresión de genes que comprometen la célula hacia una línea determinada y la maduración por la aparición de un carácter fenotípico observable. Pueden adscribirse a esta clasificación tres compartimentos con distintos grados de desarrollo: a) las colonias BFU-e (burst eritroides) progenitores diferenciados inmaduros, independientes de Eritropoyetina (Epo); b) los progenitores eritroides tardíos CFU-e, fenotípicamente reconocibles que res-

ponden proliferativamente a Epo y c) un compartimento maduro caracterizado por su hemoglobinización que no responde a Epo. Para analizar la variación temporal de estos compartimentos post-administración de una única dosis de citotóxico, ratones de la cepa CF1 fueron inyectados i.p. con ciclofosfamida (CPA), 200mg/kg, y estudiados a lo largo de 20 días. En diferentes lotes se determinaron: número total de células eritroides en médula ósea (MO) y bazo (Bz), así como el número de CFU-e y BFU-e en cultivos semisólidos. El compartimento maduro se estimó por la incorporación de  $Fe^{59}$  en sangre periférica. Las BFU-e aumentan en Bz a partir del día 5 con un máximo al día 10 mientras que en MO, este se alcanza el día 7. Las CFU-e proliferan en Bz desde el día 2, caen al día 7 y llegan a su mayor valor al día 10. En la MO, aumentan a partir del día 5, con un máximo al día 7. El % de incorporación de  $Fe^{59}$  cae al día 2 recuperándose al día 5, con un valor máximo al día 10. Los compartimentos eritroides muestran una dinámica temporal y cualitativa diferente en Bz y MO durante la recuperación post-citotóxica.

**409. Efecto de la melatonina sobre el "turnover" de serotonina (5HT) y dopamina (DA) hipotalámicas en la artritis por adjuvante de Freund (AF) en ratas.** Carlos Reyes Toso, David Pazo, Manuel Bonacho, Ana Esquifino, José Apphatie, Daniel Cardinali

*Departamentos de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires y Bioquímica, Universidad Complutense, Madrid.*

Hemos verificado previamente la existencia de alteraciones circadianas en el turnover hipotalámico de DA y 5HT durante la fase aguda de la artritis por AF. En este trabajo se examinó la eficacia de la melatonina (M) para revertir dichos cambios. Las ratas fueron tratadas durante 11 días con 30 µg de M o veh. En el día 10 se inyectó AF o su veh y 2 días después se evaluó por HPLC, en 6 horarios, el turnover de DA (DOPAC/DA) y de 5HT (HIAA/5HT). En el hipotálamo anterior (HA) el máximo en turnover de 5HT fue a las 0500 h ( $F=2.61$ ,  $p<0.05$ , ANOVA). Este efecto fue suprimido por AF y restablecido por M ( $F=2.97$ ,  $p=0.03$ ). En el hipotálamo medio (HM) los cambios en turnover de 5HT fueron a las 1700 y 0100 h ( $F=15.2$ ,  $p<0.01$ ), observándose luego de AF un único máximo a las 1300 h ( $F=13.6$ ,  $p<0.01$ ). La M indujo máximo turnover de 5HT a las 2100 h ( $F=9.61$ ,  $p<0.01$ ). En el hipotálamo posterior (HP), los cambios diarios fueron similares en los 4 grupos (máximos a 0100-0900 h). En HA, el máximo en turnover de DA fue a las 0900 h ( $F=3.68$ ,  $p<0.01$ ) y se suprimió por AF o M. En el HM se observaron cambios del turnover de DA semejantes en los 4 grupos, con máximo a las 0900 h ( $F=27.3$ ,  $p<0.01$ ). En el HP no se registraron variaciones en el turnover de DA, excepto luego de M con máximos a las 0500 h ( $p<0.0001$ ) o 2100 h ( $p=0.006$ ). Estos resultados indican que M es parcialmente eficaz para revertir los cambios circadianos en la AF.

## FARMACOLOGIA V

**410. Hepatopatías Producidas por Fármacos en el Nordeste Argentino.** Mabel Valsecia<sup>1</sup>, Gloria Rovai<sup>1</sup>, José Vilar<sup>2</sup>, Luis Malgor<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Nodo Regional Farmacovigilancia. Cátedra Farmacología, 2* *Cátedra I de Medicina, Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes.*

Las hepatopatías producidas por medicamentos (HPM) imitan todas las enfermedades hepáticas conocidas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar HPM. Se seleccionaron 38 casos de HPM, se incluyeron 15 con diagnósticos confirmados por examen de historias clínicas y pruebas de laboratorio, se excluyeron tuberculostáticos y aspirina-síndrome de Reyé. 73% pacientes presentaron síntomas como: decaimiento, prurito, ictericia, vómitos, coluria, epigastralgia y encefalopatía con daño hepático severo, fue hallazgo de laboratorio en 27% de casos. Los medicamentos inculcados fueron anticonceptivos hormonales, antiandró-

genos, antiinflamatorios no esteroideos, bloqueadores beta adrenérgicos, bloqueadores de canales de calcio, antidepresivos, tranquilizantes mayores, benzodiacepinas, hipolipemiantes. El daño predominante fue el colestásico (80%) 1 con lesión venoclusiva, Daño mixto: hepatocelular-colestásico en 2 y reacción citotóxica pura en 1. En 10 se realizó serología y fue negativa para hepatitis viral. En 5, biopsia hepática y fue compatible con la razón (R) de aminotransaminasa/fosfatasa alcalina aprobada por CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences). Las ecografías fueron normales en 6 de 7. En 2 se realizó resonancia nuclear magnética y en 1 tomografía axial computada, también normales. La suspensión de la medicación revirtió el cuadro en el 100% de los casos entre los 20 y 90 días. Se concluye que, dada la severidad de las lesiones y el costo que significó el diagnóstico de las mismas se deben incluir las HPM en el diagnóstico diferencial.

**411. "Bloqueo de las Acciones de Eritropoyetina por Antagonistas Androgénicos, "in vivo" y sobre el desarrollo de colonias celulares eritroides, "in vitro".** Malgor Luis, Mabel Valsecia, Elvira Vergés, Etel De Markowsky, Cecilia De los Reyes

*Instituto de Investigaciones Biofarmacológicas. Cátedra Farmacología. Facultad de Medicina. UNNE, Corrientes.*

El objetivo del presente trabajo es estudiar las interacciones del antiandrógeno Flutamida (Flu) sobre las acciones de Epo "in vitro" e "in vivo". **Métodos:** Ratas machos de 250 g fueron pretratadas con Flu, 160 mg/kg/día y/o Epo, 25 U/día, durante 2, 8, y 10 días. Al finalizar se realizaron estudios hematológicos "in vivo", en sangre periférica y en médula ósea para determinar el número absoluto de cada tipo celular eritroide por mg de médula ósea, de cada animal. Además se realizaron cultivos celulares de los progenitores hematopoyéticos en medios semisólidos de metilcelulosa conteniendo Epo 250 U/ml para observar la proliferación de las colonias eritroides. **Resultados "in vivo":** A los 10 días Epo produce un significativo incremento de número absoluto de células eritroides ( $1.053.991 \pm 95.180$  cél./mg). En sangre periférica el Hct es de  $50.5 \pm 3.53$  y los Reticulocitos  $3.31 \pm 0.5$ . Esta acción resulta bloqueada parcialmente en el lote de animales pretratados con Epo y Flu (células eritroides  $465.330 \pm 74.664$  cél./mg), Hct  $47.6 \pm 1.43$  y Retic  $0.85 \pm 0.15$ . **Resultados "in vitro":** En cultivos celulares de médula ósea de ratas normales, conteniendo Epo, se desarrollan  $1.050 \pm 170$  colonias CFU-E y  $824 \pm 164$  colonias BFU-E. En cultivos de médula ósea de ratas pretratadas con Flu, también conteniendo Epo, se desarrollan  $260 \pm 13.3$  colonias CFU-E y  $265 \pm 30.4$  colonias BFU-E. **Conclusiones:** El agente antiandrógeno Flutamida produce un bloqueo de las acciones de la Eritropoyetina, en forma parcial "in vivo" y total "in vitro".

**412. Efecto de litio sobre el ritmo circadiano de melatonina en pineal y suero de vizcacha.** Claudia Calderón, Estela Muñoz\*, Lilian Pelzer

*Farmacología. \*Histología y Embriología. CONICET, PLACIRH, Ciencia y Técnica. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis.*

**Introducción.** Los ritmos biológicos pueden modificarse bajo tratamiento con litio, por lo que nuestro objetivo fue estudiar la presencia de ritmos circadianos de melatonina en pineal y suero de vizcacha (*Lagostomus maximus maximus*) y si son afectados por el litio. **Materiales y Métodos.** Vizcachas adultas ( $n=60$ , 4-7kg) se inyectaron 5 semanas vía i.p. con LiCl (experimental, 1mEq/kg/día) y solvente (control). Se sacrificaron a las 4, 8, 12, 16, 20 y 24 h ( $n=5$ ). Se determinó melatonina en pineal y suero por RIA (Fraser y col., 1983). **Resultados.** Melatonina (pg/mg y pg/ml, medias  $\pm$  SEM a las 4, 12, 16, 20 y 24h): **pineal control:**  $299 \pm 70$ ,  $449.4 \pm 57$ ,  $458.7 \pm 56$ ,  $157.4 \pm 29$ ,  $357.3 \pm 31$  y  $720.5 \pm 134$ ; **pineal litio:**  $404.6 \pm 49$ ,  $283.8 \pm 40$ ,  $267.5 \pm 37$ ,  $251 \pm 44$ ,  $209.8 \pm 33$  y  $589.3 \pm 56$  (ANOVA two-way respecto a tiempo  $p<0.0001$ , litio  $p<0.003$  e interacción tiempo/droga  $p<0.004$ ); **suero control:**  $160 \pm 35$ ,  $68.1 \pm 11$ ,  $119.8 \pm 34$ ,  $86 \pm 24$ ,  $36.8 \pm 14$  y  $87.8 \pm 30$ ; **suero litio:**  $114.8$

$\pm 16$ ,  $76.8 \pm 12$ ,  $53 \pm 9$ ,  $78.2 \pm 14$ ,  $34 \pm 9$  y  $103 \pm 25$ . (ANOVA two-way respecto al tiempo  $p < 0.0003$ ). **Conclusiones.** Los controles presentan ritmo de melatonina en pineal y suero con valores máximos a las 24 y 4h respectivamente. En los animales tratados con litio existe ritmo con disminución en la amplitud de los picos.

**413. Efectos del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) sobre el sistema endocrino de ratas hembras adultas.** Ana María Evangelista de Duffard<sup>1</sup>, Alejandro Ferri<sup>1</sup>, Analía Bortolozzi<sup>1</sup>, Graciela García<sup>1</sup>, María Madariaga<sup>1</sup>, Marta Soaje<sup>2</sup>, Ricardo Deis<sup>2</sup>, Ricardo Duffard<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Toxicología Experimental, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario; <sup>2</sup> Laboratorio de Reproducción y Lactancia - CONICET, Mendoza.

En la actualidad, se discute la potencialidad de muchos pesticidas para afectar la función endocrina y reproductora. El herbicida 2,4-D afecta el SNC. Nuestro Laboratorio describió alteraciones en los niveles de aminas biogénas, y demostró el rol de la testosterona en los efectos comportamentales provocados por 2,4-D. **Objetivos:** analizar efectos del 2,4-D en el ciclo estrual, niveles circulantes de prolactina, LH, FSH, estradiol y progesterona y, estudiar cambios histológicos en ovarios de ratas de 90 días de edad. **Grupos experimentales:** ratas preñadas expuestas, aproximadamente, a 70 mg/kg/día de 2,4-D a través de la dieta desde el día de gestación 16 hasta el día postnatal 23, momento en el que las crías se destetaron y dividieron en 2 subgrupos mantenidos hasta el día postnatal 90: T1, con dieta control y T2, con comida tratada con 2,4-D. **Resultados:** T2 presentó un retraso en la apertura vaginal y un diestro prolongado revirtiendo en el día 55 postnatal. Los niveles séricos de prolactina aumentaron sólo en T2 (100%). Los niveles de LH y estradiol incrementaron en ambos grupos (T1: 225% y 29%; T2: 266% y 77%, respectivamente), mientras que las concentraciones séricas de progesterona disminuyeron para ambos tratamientos (T1: 41% y T2: 58%). No se evidenció cambios en el nivel de FSH. **Conclusión:** los resultados indicarían efectos adversos específicos del 2,4-D sobre el sistema endocrino de ratas hembras adultas.

**414. Efecto antinatriurético y antiidiurético del estrés: posibles mecanismos involucrados.** Mabel Bertuzzi, Nora Bensi, Ana Niebylski, Héctor Gauna

*Fisiología Animal, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba.*

El estrés por inmovilización en plancha (IMO), produce retención renal de sodio y agua en animales que tienen una carga previa de ClNa, en las primeras 6 hs. posteriores a la sesión de estrés. **Objetivo:** comprobar la participación del sistema nervioso adrenérgico y de Angiotensina II en la respuesta renal al estrés. Ratas macho fueron distribuidas en cinco grupos: Control (CC),

con Prazosin (PZ), bloqueante adrenérgico  $\alpha_1$ , Yohimbina (YB), bloqueante  $\alpha_2$ , Propranolol (PP), bloqueante  $\beta$  y Captopril (CP), inhibidor de la enzima convertidora de Angiotensina I. Los animales fueron colocados en jaulas metabólicas durante 6 hs luego de la administración de las drogas (vía intraperitoneal) para determinar la excreción urinaria de sodio y agua. Una semana después los animales recibieron la droga y 15 min. después una sesión de IMO durante 2 hs, registrándose las mismas variables. El bloqueo de los receptores  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  revirtió la antinatriuresis observada en el grupo control (CC =  $168.7 \mu\text{Eq} \pm 72.3$  vs CE =  $25.5 \pm 9.9$ ,  $p = 0.0003$ ), (PZC =  $101.2 \pm 42.1$  vs PZE =  $86.0 \pm 35.7$ ,  $p = 0.89$  y YBC =  $160.6 \pm 27.5$  vs YBE =  $137.6 \pm 76.6$ ,  $p = 0.23$ ), captopril lo hizo marginalmente (CPC =  $366.7 \pm 163.2$  vs CPE =  $122.32 \pm 43.6$ ,  $p = 0.08$ ), mientras que propranolol no tuvo efecto (PPC =  $229.6 \pm 86.8$  vs PPE =  $52.3 \pm 19.7$ ,  $p = 0.01$ ). Resultados semejantes se observaron para la excreción de agua, siendo captopril más efectivo en este caso que para la excreción de sodio. La antinatriuresis y antiidiuresis provocadas por IMO estarían mediadas por receptores  $\alpha$  sin participación de los  $\beta$ . Ang II tendría una participación menor en esta respuesta.

**415. Acción de antagonistas específicos sobre la inhibición de la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa neuronal producida por la neurotensina.** María Graciela López Ordieres, Georgina Rodríguez de Lores Arnaiz

*Cátedra Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. E. De Robertis". Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires.*

La neurotensina (NT) es un tridecapéptido, distribuido a nivel central y periférico, que interactúa con receptores de alta ( $\text{NT}_1$ ) y de baja ( $\text{NT}_2$ ) afinidad o como un neuromodulador de la actividad dopaminérgica. Resultados presentados anteriormente (SAFE 1998) mostraron que la NT en un rango de concentración  $3.5 \times 10^{-8}$ - $3.5 \times 10^{-6}$  M inhibía un 20-44% la actividad de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa de membranas sinaptosomales de corteza cerebral de rata. Sin embargo, concentraciones  $8.6 \times 10^{-8}$  a  $8.6 \times 10^{-6}$  M de NT no modificaban la actividad de  $\text{K}^+$ -*p*-nitrofenil-fosfatasa; sólo cuando el medio de reacción era suplementado con 0.6 mM ATP y 45 mM ClNa (medio fosforilante) se observó una inhibición del 24%. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la posible participación de los receptores a la NT y a la dopamina sobre la inhibición enzimática. Se observó que el efecto inhibitorio producido por  $3.5 \times 10^{-6}$  M NT (24%) no se modificaba por la presencia de  $1 \times 10^{-7}$  M levocabastina, antagonista de receptores de  $\text{NT}_2$ , o de  $1 \times 10^{-6}$  M haloperidol, antagonista de receptores dopaminérgicos  $\text{D}_2$ , pero que era abolido por  $1 \times 10^{-6}$  M SR 48692, antagonista de receptores  $\text{NT}_1$ . Resultados semejantes se encontraron para la reacción de la  $\text{K}^+$ -*p*-nitrofenilfosfatasa en el medio fosforilante. Se concluye que en la inhibición enzimática por la NT estarían involucrados específicamente los receptores  $\text{NT}_1$  pero no los  $\text{NT}_2$  o los  $\text{D}_2$ .