

Revista de

Farmacología de Chile

Órgano oficial de la Sociedad de Farmacología de Chile • <http://www.sofarchi.cl>

Volumen 7, Número 3

ISSN N° 0718-8811

Año 2014

Neurociencia

"ARTÍCULOS DE REVISIÓN EN NEUROFARMACOLOGÍA"

CLASS A SCAVENGER RECEPTORS AND THEIR ROLE ON GLIAL DYSFUNCTION IN ALZHEIMER'S DISEASE.

Francisca A. Cornejo and Rommy von Bernhardt.

NEW INSIGHTS OF BRAIN RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM FAR BEYOND BLOOD PRESSURE: CENTRAL ANGIOTENSIN II AS A KEY MODULATOR IN THE STRESS RESPONSE AND AMPHETAMINE INDUCED-NEUROADAPTATIONS. Natalia A. Marchese et al.

LEAD EXPOSURE AND DRUG ADDICTION. Miriam B. Virgolini and Liliana M. Cancela.

"ARTÍCULOS DE REVISIÓN EN NEUROENDOCRINOLOGÍA"

LONG TERM CONSEQUENCES OF IN UTERO ENDOCRINE DISRUPTORS EXPOSURE ON MALE OFFSPRING DEVELOPMENT.

Maria Eugenia Pallarés and Marta C. Antonelli

"SUPLEMENTO XXXVI CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE"

SALUDO DE BIENVENIDA

CONFERENCIAS

SIMPOSIOS

PRESENTACIONES ORALES

- INCORPORACIONES
- POSTULACIÓN AL PREMIO PROF. DR. JORGE MARDONES RESTART
- PRESENTACIONES LIBRES

PRESENTACIONES EN PANELES

PANEL DE EDITORES

La Revista de Farmacología de Chile tiene un panel de editores conformado por connotados farmacólogos nacionales que son miembros de la Sociedad de Farmacología de Chile y académicos de las principales universidades chilenas.

Comité Editorial:

Dr. Ramón Sotomayor-Zárate, Editor en Jefe

(Universidad de Valparaíso, Chile)

Dr. Pablo Jara Picas, Co-Editor

(Universidad de Santiago de Chile, Chile)

Dr. Hernán E. Lara

(Universidad de Chile, Chile)

Dra. Viviana Noriega

(Universidad de Chile, Chile)

Dr. Juan Carlos Prieto

(Universidad de Chile, Chile)

Dra. Jacqueline Sepúlveda

(Universidad de Concepción, Chile)

Dr. Juan Pablo G. Huidobro-Toro

(Universidad de Santiago de Chile, Chile)

Dra. Katia Gysling

(Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile)

Dra. Gabriela Díaz-Véliz

(Universidad de Chile, Chile)

Dra. Carolina Gómez Gaete

(Universidad de Concepción, Chile)

Dr. Alfonso Paredes V.

(Universidad de Chile, Chile)

Dr. Rodrigo Castillo P.

(Universidad de Chile, Chile)

Dr. Patricio Iturriaga-Vásquez

(Universidad de Chile, Chile)

Dra. Georgina M. Renard

(Universidad de Valparaíso, Chile)

Evaluadores Asociados:

Dr. Hugo F. Miranda

Dra. María Eugenia Letelier

Dr. Sergio Mora

Dr. Jorge Farías Avendaño

Dr. Raúl Corrales V.

Dr. Guillermo Díaz-Araya

Dra. Verónica Donoso

Dr. Mario Faúndez

Dra. Jenny Fiedler

Dr. Miguel Reyes-Parada

Dr. Yedy Israel

Dr. Ricardo Maccioni

Dra. Verónica Kramer

Dr. Sergio Lavandero

Dr. Juan Diego Maya

Dr. Antonio Morello

Dra. Myriam Orellana

Dra. María Elena Quintanilla

Dra. Teresa Pelissier S.

Dr. Javier Puente

Dr. Luis Quiñones

Dr. Patricio Saéz-Briones

Dra. Coralía Rivas

Dr. Leonel Rojo

Dra. Inés Ruiz

Dra. Gladys Tapia

Dra. M. Antonieta Valenzuela

Dra. M. Araceli Valle

Dr. Luis Videla

Dr. Raúl Vinet

Dr. Bruce K. Cassels

Dr. Iván Saavedra S.

Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile

Derechos Reservados a la Sociedad de Farmacología de Chile.

ISSN 0718-8811 versión impresa

ISSN 0718-882X versión digital

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio -electrónico, mecánico, fotocopiador, registrador, etcétera- sin permiso previo por escrito del comité editorial.

MISIÓN

La Revista de Farmacología de Chile es considerada el órgano oficial de difusión científica y de opinión de la Sociedad de Farmacología de Chile. En un principio esta revista nació como un remozado libro de resúmenes del XVIII Congreso Latinoamericano de la Asociación de Farmacología realizado en Chile el año 2008. Desde 2009 y hasta ahora la Revista de Farmacología de Chile ha recibido varios trabajos originales de investigación y diversas revisiones de temas farmacológicos relevantes.

La Revista de Farmacología de Chile aborda temas relacionados con la farmacología básica y experimental, así como investigaciones clínicas. Las áreas temáticas principales son: farmacocinética, farmacodinamia, farmacología cardiovascular, farmacología pulmonar, farmacología endocrina, neurofarmacología, farmacología clínica, estudios preclínicos, estrés oxidativo, fitofarmacología, ciencias farmacéuticas, química-médica y toxicología. También la revista actualmente permite divulgar opiniones sobre los principales temas de salud relacionados con medicamentos en Chile, la presentación de líneas de investigación de laboratorios nacionales en donde se realizan investigaciones farmacológicas, información de curso y programas de postgrados nacionales en farmacología y la publicación de resúmenes científicos del Congreso Anual SOFARCHI.

Audiencia:

La Revista de Farmacología de Chile esta dirigida a farmacólogos nacionales e internacionales interesados en la divulgación de la farmacología. También está dirigida a estudiantes de pregrado de carreras universitarias del área de la salud y ciencias biomédicas, y a estudiantes de postgrado que cursen maestrías y doctorados en farmacología.

Periodicidad:

Se editaran 3 números anuales (Abril, Agosto y Diciembre) en formato digital e impreso. El número de Diciembre incluirá trabajos originales y los resúmenes del Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile.

Temas a Publicar:

- Artículos originales en Farmacología Básica, Farmacología Clínica, Farmacoterapia y Toxicología.
- Artículos originales de investigación nacional e internacional en Farmacocinética y Farmacogenética.
- Artículos de revisión de temas farmacológicos importantes sobre las diversas temáticas de la disciplina.
- Artículos de Información de nuevos fármacos incorporados al arsenal terapéutico nacional.
- Opiniones oficiales de la sociedad sobre los aspectos regulatorios y nuevas políticas de medicamentos.
- Artículos sobre nuevas metodologías docentes, aplicadas en Farmacología.
- Información detallada de nuevos reportes de reacciones adversas reportadas a nivel internacional y nacional.
- Libros y revistas de los temas.
- Promoción de actividades académicas, congresos y cursos nacionales e internacionales en farmacología.
- Publicitar las ofertas de trabajo de inserción académica en Universidades Chilenas y extranjeras, así como las oportunidades de inserción laboral en la industria privada ligada al desarrollo de fármacos.

Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile

Contacto: Avenida Independencia 1007, Independencia, Santiago, Chile. Teléfono: 56-2-29786050; Correo Electrónico: consultas.sofarchi@gmail.com; farmacologia@med.uchile.cl

Editor: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate, Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Avenida Gran Bretaña 1111, Playa-Ancha, Valparaíso, Chile. Teléfono: 56-32-2508050; Correo Electrónico: ramon.sotomayor@uv.cl

EDITORIAL

Ramón Sotomayor-Zárate, Pharm.D., Ph.D.

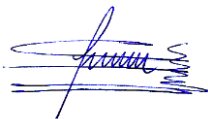
Editor en Jefe

Vice-Presidente de la Sociedad de Farmacología de Chile

Este nuevo número de la Revista de Farmacología de Chile cuya temática es la Neurociencia, cuenta con la valiosa co-edición de la Dra. Georgina M. Renard de la Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, quien pone a disposición de nuestros lectores revisiones sobre nuevas investigaciones en el Campo de la Enfermedad de Alzheimer y de la Adicción a drogas de abuso. Estos trabajos originales de destacados investigadores Chilenos y Argentinos, son de extraordinaria calidad y representan nuevos blancos farmacológicos para tratar estas patologías.

Respecto a nuestra Revista de Farmacología de Chile, durante este año hemos realizado un gran esfuerzo colaborativo que se ha materializado en tres números temáticos que representan la publicación de 17 artículos originales de revisión e investigación (un 40% más que el año 2013). Además, junto con el Dr. Pablo Jara Picas hemos logrado satisfactoriamente la incorporación de nuestra revista al directorio y catalogo Latindex (<http://www.latindex.org/buscador/ficRev.html?opcion=1&folio=23535>), lo cual significa un gran avance en nuestra gestión editorial y por supuesto esperamos que sea un estímulo para que nuestros lectores nos envíen nuevos artículos. En este sentido, actualmente me encuentro trabajando en la documentación necesaria para postular a nuestra revista a incorporación en el catálogo SciELO. Aprovecho también de invitar a todos los investigadores nacionales e internacionales que son lectores de nuestra revista y que trabajen en el campo de la farmacología, para que envíen artículos para el primer número del año 2015 que corresponderá a la unidad temática de Neurofarmacología.

Un cordial saludo y un gran abrazo para todos



Dr. Ramón Sotomayor-Zárate

Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC

Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias

Universidad de Valparaíso

EDITORIAL: NEUROFARMACOLOGÍA

Georgina M. Renard, Ph.D.

Profesor Auxiliar, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

En la presente edición de la Revista de Farmacología de Chile se presentan cuatro trabajos de revisión originales realizados por destacados investigadores nacionales e internacionales, los cuales cubren importantes tópicos en el área de la neurofarmacología y neuroendocrinología. Además, se presentan los resúmenes científicos correspondientes al XXXVI Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile.

El primer trabajo de esta revista realizado por Francisca Cornejo y Rommy von Bernhardt de la Pontificia Universidad Católica de Chile, revisa el rol de los receptores scavengers en patologías como la enfermedad de Alzheimer. Se hace una breve descripción de las características de la Enfermedad de Alzheimer centrándose en la “hipótesis de la disfunción de la glia” como patogenia de la enfermedad. Los autores hacen una descripción detallada de la función de los receptores scavengers clase A en la patogenia de enfermedades como el Alzheimer y la Aterosclerosis. Finalmente se entrega en este trabajo una excelente descripción de como la modulación farmacológica de estos receptores es una alternativa terapéutica para tratar estas enfermedades.

En la segunda revisión Natalia Marchese y colaboradores de la Universidad Nacional de Córdoba discuten la función de la angiotensina II del cerebro en la respuesta de estrés y el abuso de drogas, donde describen que la activación de los receptores de angiotensina 1 (AT₁) ejercen una regulación positiva sobre la respuesta al estrés. Teniendo en cuenta que se ha observado que una respuesta exacerbada a diferentes estresores contribuye al uso compulsivo de las drogas de abuso, se revisa en detalle en este manuscrito el papel de la angiotensina II y la participación de los receptores AT₁ en la generación de conductas tipo adictivas, como la sensibilización a anfetamina. Por lo tanto, el Sistema Renina-Angiotensina cerebral representa un novedoso blancos farmacológico para el tratamiento del estrés y la adicción a las drogas de abuso.

En el tercer trabajo realizado por Miriam Virgolini y Liliana Cancela de la Universidad Nacional de Córdoba se revisan los efectos neurotóxicos de la exposición a plomo durante distintas etapas del desarrollo y como esta exposición puede interactuar con distintos factores, como el estrés. En este trabajo principalmente se hace una revisión exhaustiva de los efectos de la exposición a plomo sobre respuestas neuroconductuales asociadas a las drogas de abuso, dejando claro como la exposición a este contaminante en etapas del desarrollo, es un factor de vulnerabilidad para adquirir conductas adictivas, así como a respuestas exacerbadas al estrés.

Finalmente, en la revisión de María Eugenia Pallarés y Marta Antonelli de la Universidad de Buenos Aires se discuten los efectos a largo plazo producidos por la exposición a disruptores endocrinos durante el desarrollo fetal de roedores machos. Primero se hace una revisión sobre cómo se produce la diferenciación masculina, tanto a nivel Reproductivo como a nivel del Sistema Nervioso (haciendo especial hincapié en el circuito dopaminérgico). Luego los autores hacen una descripción de los efectos de diferentes disruptores endocrinos, como la flutamida (un bloqueador de los receptores de andrógenos) sobre el desarrollo reproductivo masculino a largo plazo. Finalmente, los autores detallan en esta revisión los efectos del estrés prenatal durante el desarrollo y la edad adulta de los machos, observando efectos similares con los producidos por la administración de flutamida durante la preñez. En resumen, los autores proponen que el mecanismo de acción del estrés prenatal podría estar relacionado con una disrupción de los efectos producidos por andrógenos durante el desarrollo del cerebro.

Los tópicos desarrollados en los artículos presentados en este número de la Revista de Farmacología de Chile tienen una gran implicancia sobre patologías muy prevalentes en la actualidad y de gran interés biomédico. Aunque los avances en el campo de la neurofarmacología y neuroendocrinología de estas enfermedades todavía no permite dar una clara respuesta de los mecanismos etiológicos involucrados, es de gran importancia explorar nuevos blancos terapéuticos que ayuden a abordar estas patologías de diversas aristas.

Revista de Farmacología de Chile

AÑO 2014 VOLUMEN 7 NÚMERO 3

ARTÍCULOS ORIGINALES EN NEUROFARMACOLOGÍA

CLASS A SCAVENGER RECEPTORS AND THEIR ROLE ON GLIAL DYSFUNCTION IN ALZHEIMER'S DISEASE (Receptores Scavenger Clase A y su rol en la disfunción glial en la enfermedad de Alzheimer). Francisca A. Cornejo and Rommy von Bernhardt.

NEW INSIGHTS OF BRAIN RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM FAR BEYOND BLOOD PRESSURE: CENTRAL ANGIOTENSIN II AS A KEY MODULATOR IN THE STRESS RESPONSE AND AMPHETAMINE INDUCED-NEUROADAPTATIONS (Nuevas perspectivas en la función del sistema renina angiotensina cerebral fuera del control de la presión arterial: Angiotensina II central como modulador clave en la respuesta de estrés y las neuroadaptaciones inducidas por anfetamina). Natalia A. Marchese, Iara Rodríguez, Victoria Occhieppo, María C. Paz, Gustavo Baiardi and Claudia Bregonzio.

EXPOSICIÓN A PLOMO Y ADICCIÓN A DROGAS (Lead exposure and drug addiction). Miriam B. Virgolini y Liliana M. Cancela.

ARTÍCULO ORIGINAL EN NEUROENDOCRINOLOGÍA

LONG TERM CONSEQUENCES OF IN UTERO ENDOCRINE DISRUPTORS EXPOSURE ON MALE OFFSPRING DEVELOPMENT (Consecuencias a largo plazo de la exposición in utero a interruptores endócrinos sobre el desarrollo de la cría macho). María Eugenia Pallarés and Marta C. Antonelli

SUPLEMENTO XXXVI CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

SALUDO DE BIENVENIDA

CONFERENCIAS

SIMPOSIOS

PRESENTACIONES ORALES

- **INCORPORACIONES**
- **POSTULACIÓN AL PREMIO PROF. DR. JORGE MARDONES RESTART**
- **PRESENTACIONES LIBRES**

PRESENTACIONES EN PANELES

CLASS A SCAVENGER RECEPTORS AND THEIR ROLE ON GLIAL DYSFUNCTION IN ALZHEIMER'S DISEASE

(Receptores Scavenger Clase A y su rol en la disfunción glial en la enfermedad de Alzheimer)

Francisca A. Cornejo and Rommy von Bernhardt

Department of Neurology, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent dementia worldwide, with the number of patients constantly increasing due to the aging of the population. Being the primary cause of this disease unknown, all therapeutic approaches tested up to date have failed to be effective, leading to recognize AD as a multifactorial syndrome that apparently lacks a unique target to attack and prevent its progression.

Among the possible molecules involved in AD, class A scavenger receptors (SR-A) have been shown to participate in the phagocytosis of β -amyloid, and in the glial activation response induced by inflammatory stimuli. Here, we review the participation of SR-A in several chronic pathologies, including AD and atherosclerosis, as well as the pharmacological approaches used to modulate their activity and expression. Finally, we review their role in glial activation and their possible participation in glial alterations observed in AD, and discuss the most recent evidence that propose SR-A as a potential target for the treatment of this disease.

Keywords: A β , glia, neurodegenerative disease, neuroinflammation, SR-A.

Rev. Farmacol. Chile (2014) 7(3) 7-16

Received 15-09-2014; Revised 20-09-2014; Accepted 26-09-2014

1) INTRODUCTION

Neurodegenerative diseases are among the most prevalent pathologies in aged persons. Pathophysiological landmarks include neuronal death in specific brain areas, resulting in behavioral impairment and dementia (Banik & Anand 2013). It has been estimated that worldwide, around 35 million people have dementia, and considering the demographic tendency of population aging, the number will have a 3-fold increase by 2050 (Braak & Del Tredici 2011). Among aging-associated dementias, Alzheimer's disease (AD) is the most frequent, affecting 24 million people worldwide, with the number of patients doubling every 20 years (Ferri et al. 2005).

2) ALZHEIMER'S DISEASE

AD is characterized by a progressive loss of cognitive skills, neurodegeneration, glial activation and neuroinflammation (Wyss-Coray 2006). Neuropathological features include neurofibrillary tangles and β -amyloid (A β) plaques in the brain (Krstic & Knuesel 2013). There are two clinically defined forms of AD, the early onset familial form, with clear genetic factors, and the late onset sporadic form. The

genetic forms of AD are due to alterations in the proteolytic processing of the amyloid precursor protein (APP), favoring A β production. Their study gave rise to the "A β hypothesis" (Hardy & Allsop 1991), which proposes that APP mismetabolism and A β deposition are the primary events for the disease progression, and all the other pathological events are consequences of A β accumulation. Although this hypothesis is coherent with the familial AD pathology features, there is growing evidence that different mechanisms are involved in sporadic AD (Krstic & Knuesel 2013). Over 90% of AD cases correspond to late-onset Alzheimer's disease (LOAD); stating the difference from genetic AD, where the disease is developed early in life (often during the fourth decade of life). It has been established that the greatest risk factor for LOAD its aging itself (Savva et al. 2009).

Although diagnostic criteria for AD involve the presence of A β plaques (called neuritic or senile plaques) in the patient's brain, neurodegeneration and cognitive impairment in AD-like dementias are not correlated to A β deposition in the brain (Jack et al. 2012, Wirth et al. 2013).

Correspondence to: Dr. Rommy von Bernhardt, Laboratory of Neuroscience, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Marcoleta 391, Santiago, Chile. Tel.: +56 2 23546936; Fax: +56 2 26326221; E-mail: rvonb@med.puc.cl

This has highlighted the need to assess other actors that could have a greater incidence in AD development than A β . Several animal studies have allowed the elucidation of the inflammatory components of AD; it has been showed that repeated injections with the gram-negative bacteria endotoxin lipopolysaccharide (LPS), induces A β accumulation in the hippocampus and brain cortex, and cognitive deficit, in wild type mice (Lee et al. 2008, Kahn et al. 2012), and in the offspring of mothers injected with LPS during late gestational stages (Krstic et al. 2012). In addition, in APPsw transgenic mice (an animal carrying the APP Swedish mutation associated with early-onset AD), systemic administration of LPS induced a significant increase in APP and A β production, increasing the microglial activity markers, and exacerbating pathological features (Sheng et al. 2003).

There are additional evidence from studies in patients suggesting an inflammatory origin for AD, that showed increased plasmatic levels of several inflammatory cytokines such as Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6), and Interleukin-1 β (IL-1 β) (Kamer et al. 2009, Fillit et al. 1991, Bermejo et al. 2008, Zuliani et al. 2007, Singh & Guthikonda 1997, Holmes et al. 2009); effect that has also been reported in brains of AD-animal models in adult stages (Sly et al. 2001).

3) GLIAL CELLS

Glial cells, especially astrocytes and microglia, are responsible for brain inflammation. Microglia are cells derived from a monocyte/macrophage lineage that mediate the innate immune response in the central nervous system (CNS) (Kettenmann et al. 2011). The neuroimmune response is modulated by inflammatory cytokines and can induce a self-sustained inflammatory environment when microglia are exposed chronically to a stimulus such as A β (Rubio-Perez & Morillas-Ruiz 2012).

Given that brain aging is a process that involves the overproduction of inflammatory mediators and impairs the immune response, and that A β is normally produced in our brain but its production is increased under inflammatory conditions (von Bernhardi et al. 2010), microglia could respond different to A β as the brain gets older. In fact, in AD appears that microglia are progressively activated with age, activation that is correlated with A β accumulation in the brain (Kitazawa et al. 2005), which suggests that the progressive increase in microglial activation and the neuroinflammation induced as patients get older, could further favor A β accumulation.

Furthermore, stimulation of microglia by A β induces intracellular activation of Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) pathways that promote expression of inflammatory genes, and cytokines and chemokines

release (Ho et al. 2005). However, microglial cell activation can also promote A β plaque clearance (Frautschy et al. 1998, Qiu et al. 1998) and induce the release of neuronal growth factors, such as glial derived neurotrophic factor (GDNF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and nerve growth factor (NGF) (Nakajima et al. 2001). Thus, inflammatory activation of microglia is not merely detrimental for neuronal homeostasis, but it also serves protective functions.

Astrocytes are involved in neuronal trophic support and also participate in A β clearance (Rossner et al. 2005, Murgas et al. 2012, Alarcón et al. 2005). On the other hand, exposure of astrocytes to A β induces several metabolic changes, affecting neuronal viability (Allaman et al. 2010) and inducing release of inflammatory cytokines (White et al. 2005, Fioravanzo et al. 2010, Murgas et al. 2012). Nevertheless, regardless that astrocytes' activation appears to result in several adverse effects in AD progression, our group and others have shown that astrocytes attenuate cytotoxic effects mediated by activated microglia (von Bernhardi & Eugenin 2004, Ramírez et al. 2005), suggesting that astrocytes have a dual role in AD.

4) GLIAL DYSFUNCTION HYPOTHESIS

Neuroinflammatory changes observed in AD lead to the "inflammatory hypothesis" to explain AD pathogenesis (Town et al. 2005), which stated that glial cell hyperactivity would be the cause of AD. The proposed mechanism is that A β plaques induce a chronic inflammatory response that inhibits their clearance by glia. As an alternative to that view, we propose that AD is not the result of glial cell hyperactivity, but of glial cell dysfunction (von Bernhardi 2007). The "glial dysfunction hypothesis" proposes that the impairment of the scavenger functions of microglia, responsible for the removal of diverse endogenous and exogenous molecules, and their impaired response to regulatory mechanisms, would reduce A β clearance (among several changes), resulting in a microglia with decreased protective functions and increased cytotoxic properties because of their persistent inflammatory activation (von Bernhardi 2007). Chronically activated glia could damage neurons by releasing cytotoxic products such as reactive oxygen species (ROS), nitric oxide (NO), eicosanoids and proteolytic enzymes, among others (Halliday et al. 2000). Meanwhile, increased inflammatory mediators and stress conditions favor proteolytic cleavage of APP that produces A β (Del Bo et al. 1995, Ringheim et al. 1998, Misonou et al. 2000), further inducing inflammatory cytokines expression in glia, contributing to a vicious circle of neural dysfunction and cell death (Abbas et al. 2002, Brown & Bal-Price 2003). This reduced microglial phagocytic activity could explain A β accumulation in AD patients brains, situating A β plaques formation as a

consequence of glial dysfunction and not the primary agent responsible of the disease (von Bernhardi 2007).

5) CURRENT TREATMENTS FOR ALZHEIMER'S DISEASE

Although nearly 200 drugs had advanced to phase II clinical trials for AD treatment, only cholinesterase inhibitors and memantine have been effectively approved for AD treatment over the past 30 years (Schneider et al. 2014). The reason for the limited success on therapeutic approaches could depend of the fact that AD is a complex disease, more likely a syndrome, involving multiple disease mechanisms and not a single specific target to treat.

Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors started to be used for the treatment of AD after two British groups showed that acetylcholine-releasing neurons were the first ones degenerating in AD (Coyle et al. 1983). Cholinergic neurons are mainly located in the basal forebrain, providing widespread innervations to several brain areas that participate in cognitive functions and memory (Drachman 1977). Neurodegeneration of those neurons are associated with symptoms observed in AD patients and is correlated with the severity of dementia (Whitehouse et al. 1981). AChE inhibitors have a modest but significant effect on cognitive function of AD patients, working better for patients with mild to moderate AD (Grutzendler & Morris 2001). Their effect is only symptomatic, increasing the availability of acetylcholine to compensate for cholinergic neuron loss, having no effect on the pathological mechanisms.

Other widely used drug for AD treatment is memantine, an uncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist that works as a channel blocker and interacts with a variety of ligand-gated ion channels. Whereas it is not known how memantine exerts its therapeutic activity, it has been observed that at certain concentrations it promotes synaptic plasticity and preserves or even enhances memory in animal models, by inhibiting NMDA receptor-mediated excitotoxicity, which is believed to have a key role in progressive neuronal loss in AD (Rogawski & Wenk 2003). However, some studies report that memantine lacks benefits for mild AD and has a modest effectiveness in moderate AD (Schneider et al. 2011). Although neither of these drugs are good to stop the progression of cognitive impairment, memantine appears to be more effective than AChE inhibitors (Tan et al. 2014). In order to target a possible cause for AD, most of therapeutical efforts have been focused on the "A β hypothesis", which has been the most popular view for AD mechanisms (Lannfelt et al. 2014). One of the most remarkable therapeutic approaches in the field has been A β immunization (von Bernhardi 2010). The AN1792 vaccine was shown to reduce A β plaques in transgenic mice that accumulates A β in the brain and improved their cognitive performance (Wang et al. 2014, Schenk et al.

1999, Bard et al. 2000). Shortly after those findings, a randomized placebo-control study of AN1792 made in AD patients resulted in a 6% of meningoencephalitis in treated patients, leading to the interruption of the study (Orgogozo et al. 2003). Despite the immunization was suspended, follow up studies of those patients showed a reduced deposition of senile plaques and reduced quantities of tau, the main protein that constitute neurofibrillary tangles, in the cerebrospinal fluid (CSF) of antibody responders patients (Gilman et al. 2005). Although no cognitive benefits were consistently reported (Schneider et al. 2014), the severe adverse effects and the poor clinical efficacy observed in active immunotherapy trials lead to the development of passive immunotherapy against A β (reviewed in Lannfelt et al. 2014). Some of them included A β antibodies such as bapineuzumab (Salloway et al. 2009) and solanezumab (Laske 2014).

In addition, other drugs based on the "A β hypothesis" have been recently developed for the treatment of AD, including A β aggregation inhibitors (Aisen et al. 2007, Salloway et al. 2011), and γ -secretase inhibitors (Green et al. 2009, Coric et al. 2012, Doody et al. 2013), but they appear to be ineffective as AD treatment (Schneider et al. 2014). Thus, because the A β hypothesis based therapies appear to have no disease-modifying features, and AD prevalence is rapidly increasing throughout the world, we decided to explore alternative mechanisms based on the "glial dysfunction hypothesis" that could be effective targets for AD treatment.

6) SCAVENGER RECEPTORS IN AD

On phagocytic cells, including glia, phagocytosis of exogenous and endogenous ligands, including cell debris and A β is largely mediated by scavenger receptors (SRs), a family of membrane receptors characterized by their ability to bind and mediate uptake of exogenous and endogenous poly-anionic ligands for their later degradation, participating in the host immune response (Canton et al. 2013).

There is abundant evidence associating SRs activity with the pathophysiology of AD (reviewed in Cornejo & von Bernhardi 2013). For example, microglia obtained from aged APP/PS1 mice have a reduced expression of class A scavenger receptor (SR-A), CD36 and Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE), as well as reduced A β -degrading enzymes neprilisin, insulin and metalloproteinase MMP9 (Hickman et al. 2008). This kind of evidence has revealed a possible role of SRs on glial cell activation, and more specifically, on the inflammatory changes observed in AD; given that glial activation involves functional changes that induce "shifts" in the basal immune reactivity (von Bernhardi 2007), and that SRs are involved in the glial response generated against A β

(Cornejo & von Bernhardt 2013), aging-induced changes of SRs expression (Hickman et al. 2008) could participate in the development of the glial dysfunction in AD. In this section, we will specifically discuss the role of SR-A in several pathologies and their modulation as a potential therapy for AD.

7) CLASS A SCAVENGER RECEPTOR

Among SRs families, SR-A appears to be one of the most relevant for AD (Cornejo & von Bernhardt 2013). SR-A has three isoforms generated by alternative splicing; SR-AI/II/III. Isoforms I and II are membrane receptors, whereas SR-AIII lack its membrane destination domain, remaining in intracellular vesicles and lacking a known function (Bowdish & Gordon 2009). Structurally, SR-A is a trimeric transmembrane glycoprotein, which is expressed in the spleen, nervous system, thymus, lymphatic nodes, lung macrophages, and pancreas macrophages (Hughes et al. 1995). Although SR-A expression has been reported mostly in macrophagic cells, it is expressed by microglia and astrocytes in the CNS (Christie et al. 1996, Godoy et al. 2012). The receptors have two adjacent fibrous segments: a supercoiled α -helix and a collagen-like triple helix. The SR-AI isoform also has a globular C-terminal structure consisting on a cysteine-rich domain (Resnick et al. 1996). Although SR-AII lacks this domain, both isoforms are often expressed together and apparently there are no functional differences between them (Bowdish & Gordon 2009).

One of the main functions of SR-A is the uptake of modified low density lipoproteins (LDL) (Ling et al. 1997), having an important role in atherosclerosis physiopathology. Besides, SR-A has a key role in host-pathogen interaction and in the recognition of pathogen associated molecular patterns (PAMPs) (Suzuki et al. 1997), acting as a pattern recognizing receptor (PRR). The absence of SR-A increases pathogen susceptibility, diminishing the ability of the immune system to eliminate bacterial infections (Suzuki et al. 1997, Thomas et al. 2000). In addition, this receptor modulates LPS-induced IL-1 β release (Kobayashi et al. 2000), indicating that SR-A participates in inflammatory macrophage activation (Yi et al. 2009, Chen et al. 2010, Yu et al. 2011, Yu et al. 2012).

In the CNS, particularly in astrocytes, SR-A also modulates IL-1 β and NO release, as well as ERK, JNK, p38 and nuclear factor kappa B (NF κ B) pathways (Murgas et al. 2013), participating actively in glial cell activation. Finally, SR-A appears to be also involved in cell-matrix adhesion mechanisms (van Velzen et al. 1999), apoptotic cells endocytosis (Platt et al. 2000) and myelin waste clearance (Hendrickx et al. 2013).

8) INVOLVEMENT OF SR-A IN DISEASE MECHANISM

As already mentioned, SR-A is mainly expressed in macrophages, and appears to serve several functions in host defense against pathogens (Suzuki et al. 1997, Ohnishi et al. 2011, Arredouani et al. 2006). The first SR-A knockout mouse (SR-A^{-/-}) was developed by Suzuki et al., who reported that absence of SR-A increased susceptibility to infections mediated by *Listeria monocytogenes* or herpes simplex virus type-1 (Suzuki et al. 1997). Later, it was shown that SR-A^{-/-} mice had an increased mortality due to pneumococcal lung infection, impaired phagocytosis of bacteria in vivo, and a significant pneumonic inflammation, and also increased inflammatory cytokines levels in lung fluids when mice were exposed to inhaled particles (Arredouani et al. 2006). In a septic shock model induced by LPS inoculation, SR-A^{-/-} mice showed high blood levels of inflammatory cytokines and elevated NF κ B activation (Ohnishi et al. 2011), demonstrating the important role of SR-A in host defense mechanisms.

SR-A has also been implicated in some types of cancer. In hereditary prostate cancer, it has been reported missense mutations in SR-A gene that induce susceptibility to prostate cancer in African-American and European men (Xu et al. 2002). Also, it has been observed a reduced SR-A expression in human lung tumor tissues, whereas SR-A depletion in mice induces the expression of pro-angiogenic factors such as MMP9 in the same tumor type (Ben et al. 2012). Those results indicate that SR-A absence favors a pro-carcinogenic environment in lung cancer. However, some in vitro studies have revealed that SR-A^{-/-} macrophages co-cultured with tumor cells inhibit the tumor progression and metastasis, which was also observed in ovarian and pancreatic cancer models in vivo (Neyen et al. 2013). These results are consistent with previous studies showing an increased expression of SR-A in human and murine ovarian tumor ascites (Bak et al. 2007).

A third role for SR-A has been proposed in post-infarct remodeling and heart failure. SR-A^{-/-} mice have an exacerbated cardiac function deterioration, ventricular dilatation and fibrosis after an experimentally induced myocardial infarction. The detrimental effect is rescued by transplantation of bone marrow cells obtained from SR-A^{+/+} animals (Hu et al. 2011). In contrast, it has been reported that cerebral infarct size is reduced, with less hippocampal neuronal damage, and decreased apoptosis after ischemia-reperfusion in SR-A^{-/-} compared with SR-A^{+/+} mice (Lu et al. 2010), suggesting that SR-A serves differential functions on tissue injury in the brain and in the periphery.

Given that one of the roles of SR-A is to mediate macrophage adhesion to substratum (Fraser et al. 1993), it has also been established the participation of SR-A in diabetic nephropathy. Diabetic SR-A^{-/-} mice show reduced albuminuria, glomerular hypertrophy, mesangial matrix expansion, and less expression of Transforming Growth Factor-β (TGF-β) compared with WT diabetic mice, effects that are associated with a significant decrease in macrophage infiltration of the kidney of SR-A^{-/-} animals (Usui et al. 2007). These results suggest that SR-A favors the diabetic nephropathy, an effect that could be mediated by promoting macrophage adhesion to the kidney extracellular matrix.

Although participation of SR-A has been described in several pathologies as those mentioned above, there are two high-prevalence diseases in which SR-A appears to be a key actor: Atherosclerosis and Alzheimer's disease.

8.1) Atherosclerosis:

High plasmatic levels of LDL or very low density lipoprotein (VLDL) lead to the accumulation of these molecules in the vascular intima, where they become modified (Poston & Davies 1974). These modifications activate endothelial cells, which recruit circulating monocytes to the region, where they differentiate into macrophages and later become foam cells, establishing the atherosclerotic plaque (Poston & Davies 1974). In 1979, Goldstein described SRs as the macrophage receptors that mediate the uptake and degradation of modified lipoproteins, transforming macrophages into foam cells (Goldstein et al. 1979). However, the importance of SR-A on atherogenesis was only elucidated 20 years later by Suzuki et al., who showed that SR-A^{-/-} mice had atherosclerotic lesions of reduced sizes in animals deficient in apolipoprotein E (ApoE) (Suzuki et al. 1997). Because SR-A is a receptor mostly expressed in macrophages, this evidence revealed for the first time the importance of macrophages in the initiation of atherosclerosis, changing the original paradigm, which considered that plasma cholesterol level was the main responsible for the pathology. In addition, another study using SR-A^{-/-} mice deficient in LDL receptor showed a reduction in plasmatic cholesterol levels and reduced atherosclerotic plaques (Sakaguchi et al. 1998). In agreement with these results, mice overexpressing SR-A showed an increased degradation of modified LDL, and increased foam cell phenotype features when incubated with acetylated LDL (acLDL) (de Winther et al. 1999). However, other study on a transgenic mice overexpressing SR-A in the liver showed a reduced hyperlipidemia induced by diet and increased levels of high density lipoproteins (HDL) levels (Wölle et al. 1995). Notwithstanding, hepatocytes normally do not express SR-A (Hughes et al. 1995), which could explain the differential effect of SR-A over atherogenesis when is expressed in the liver.

8.2) Alzheimer's disease:

In AD, it has been observed a wide SR-A immunoreactivity in cells associated to senile plaques (Christie et al. 1996, Bornemann et al. 2001) and it has been proposed that SR-A could be important for Aβ clearance (Paresce et al. 1996) and microglial/monocytes adhesion to Aβ fibrils (El Khoury et al. 1996). This was first demonstrated in vivo by Chung et al., who reported that microglial cells from SR-A^{-/-} mice showed a 60% reduction in the phagocytosis of fibrillar Aβ (Chung et al. 2001). Complementary results were obtained in a more recent AD animal model that overexpresses Aβ and lacks SR-A, in which it was shown a significant increase of Aβ plaques loads, and an increased mortality rate (Frenkel et al. 2013). Nevertheless, there is also one report showing that SR-A absence does not induce a significant extracellular Aβ accumulation (Huang et al. 1999), suggesting that SR-A would not have a key role in Aβ phagocytosis and AD development, but other SRs could compensate the loss of SR-A function regarding Aβ clearance (Chung et al. 2001).

9) PHARMACOLOGICAL REGULATION OF SR-A

Since the early reports on the potential role of SR-A in atherogenesis, efforts for modulating SR-A activity/expression have been done in the context of atherosclerosis. The first report describing a small molecule that antagonized SR-A activity was by Lysko et al., (1999). They showed that the compound (E)-methyl 4-chloro-α-[4-(4-chlorophenyl)-1, 5-dihydro-3-hydroxy-5-oxo-1-(2-thiazolyl)-2H-pyrrol-2-ylidene]benzene acetate inhibited the uptake of modified lipoproteins in human embryonic kidney (HEK) cells transfected with SR-A type I/II (Lysko et al. 1999). There are also reports of peptides that act as SR-A antagonists by mimicking ApoA-I, other ligand for SR-A, to target the atherosclerotic lesions (Segers et al. 2012), and to reduce brain arteriole inflammation in hyperlipidemic mice (Bugu et al. 2006). Among them, the SR-A antagonist peptide 4F has been the pharmacological approach with the best beneficial effects for the treatment of atherosclerosis (Sherman et al. 2010), and is currently in clinical trial as a promising treatment for this disease (White et al. 2014).

In addition, recent efforts are being made in the field of cancer treatment, where SR-A inhibition has become a promising approach in tumor growth control (Wang et al. 2007). The initial studies reported that the use of an anti-SR-A immunotoxin, significantly reduced the tumor burden in mice challenged with peritoneal tumors (Bak et al. 2007). Also, the same small peptide 4F used in atherosclerotic treatment (see above), which compete with SR-A ligands, resulted in an inhibition of tumor progression and metastasis in cancer animal models (Su et al. 2010, Ganapathy et al. 2012, Neyen et al. 2013).

Finally, because of the involvement of SR-A in AD pathology, the effect of SR-A activity modulation over AD progression has been studied over the last few years. In 2009, it was found that a variant of the 4F peptide co-administered with pravastatin (a member of the family drugs known as statins, used for the control of hypercholesterolemia) in a mice model of AD, resulted in the improvement of cognitive tasks, a reduction in A β load in the hippocampus, a reduction in the number of activated microglia, and a robust reduction of inflammatory markers (Handattu et al. 2009). The same group later published similar results by using an ApoE mimetic peptide, Ac-hE18A-NH₂, showing that mimetic peptides that antagonize SR-A could have beneficial outcomes in AD treatment (Handattu et al. 2013). However, a recent independent study has provided contradictory evidence that suggest that activation of SR-A could act as a novel therapy for AD (Zhang et al. 2014). It was observed that the heptapeptide XD4 was capable of promoting the activation of SR-A, increasing the binding of A β to SR-A and favoring its phagocytosis, inhibiting A β oligomers-induced cytotoxicity, and decreasing the production of inflammatory cytokines in vitro (Zhang et al. 2014). Nevertheless, the mechanism for XD4 action and the in vivo effects remain to be elucidated.

10) CONCLUDING REMARKS

Given that SR-A is a receptor involved both in AD pathophysiology and in inflammatory activation of glial cells (Murgas et al. 2013), the modulation of their activity must be carefully evaluated as a potential therapeutic target. According to most of the available evidence, SR-A inhibition could increase A β burden in the brain of AD patients, because of their important role in A β phagocytosis, potentially promoting neurotoxic effects and disease progression. However, the participation of SR-A on glial activation and its role on AD-glial dysfunction are still unresolved matters. Thus, the modulation of SR-A activity should not be considered as exclusively having effects over A β clearance.

As previously discussed, the use of SR-A antagonists appears to improve the phenotypic features of AD (Handattu et al. 2009; 2013), which led us to think that SR-A relevance for AD pathophysiology is not restricted to the uptake of A β , but it also could modulate several effectors involved in AD pathogenesis and progression. Thus, their inhibition could reduce key neuroinflammatory effects secondary to the glial cell dysfunction observed in AD. Additional studies to understand the participation of SR-A on the modulation of glial activity are needed, in order to understand their role in AD.

ACKNOWLEDGMENTS:

Work was partially supported by grants FONDECYT N°1131025 (RvB) and CONICYT Fellowship for doctoral studies N°21120013 (FC). Authors declare no conflict of interest.

REFERENCES:

- Abbas, N., Bednar, I., Mix, E., Svedberg, M., Paterson, D., Ljungberg, A., Morris, C., Winblad, B., Nordberg, A. and Zhu, J. (2002) Up-regulation of the inflammatory cytokines IFN-gamma and IL-12 and down-regulation of IL-4 in cerebral cortex regions of APP(SWE) transgenic mice. *J. Neuroimmunol.* 126, 50-57.
- Aisen, P., Gauthier, S., Vellas, B., Briand, R., Saumier, D., Laurin, J. and Garceau, D. (2007) Alzhemed: a potential treatment for Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.* 4, 473-478.
- Alarcón, R., Fuenzalida, C., Santibáñez, M. and von Bernhardi, R. (2005) Expression of scavenger receptors in glial cells. Comparing the adhesion of astrocytes and microglia from neonatal rats to surface-bound beta-amyloid. *J. Biol Chem.* 280, 30406-30415.
- Allaman, I., Gavillet, M., Bélanger, M., Laroche, T., Viertl, D., Lashuel, H. and Magistretti, P. (2010) Amyloid-beta aggregates cause alterations of astrocytic metabolic phenotype: impact on neuronal viability. *J. Neurosci.* 30, 3326-3338.
- Arredouani, M., Yang, Z., Imrich, A., Ning, Y., Qin, G. and Kobzik, L. (2006) The macrophage scavenger receptor SR-A/II and lung defense against pneumococci and particles. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 35, 474-478.
- Bak, S., Walters, J., Takeya, M., Conejo-Garcia, J. and Berwin, B. (2007) Scavenger receptor-A-targeted leukocyte depletion inhibits peritoneal ovarian tumor progression. *Cancer Res.* 67, 4783-4789.
- Banik, A. and Anand, A. (2013) Preclinical non-human models to combat dementia. *Ann. Neurosci.* 20, 24-29.
- Bard, F., Cannon, C., Barbour, R., Burke, RL., Games, D., Grajeda, H., Guido, T., Hu, K., Huang, J., Johnson-Wood, K., Khan, K., Kholodenko, D., Lee, M., Lieberburg, I., Motter, R., Nguyen, M., Soriano, F., Vasquez, N., Weiss, K., Welch, B., Seubert, P., Schenk, D. and Yednock, T. (2000) Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat. Med.* 6, 916-919.
- Ben, J., Jin, G., Zhang, Y. Ma, B., Bai, H., Chen, J., Zhang, H., Gong, Q., Zhou, X., Zhang, H., Qian, L., Zhu, X., Li, X., Yang, Q., Hu, Z., Xu, Y., Shen, H. and Chen, Q. (2012) Class A scavenger receptor deficiency exacerbates lung tumorigenesis by cultivating a procarcinogenic microenvironment in humans and mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186, 763-772.
- Bermejo, P., Martin-Aragon, S., Benedi, J., Susin, C., Felici, E., Gil, P., Ribera, JM. and Villar, AM. (2008) Differences of peripheral inflammatory markers between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Immunol. Lett.* 117, 198-202.
- Bornemann, K., Wiederhold, K., Pauli, C., Ermini, F., Stalder, M., Schnell, L., Sommer, B., Jucker, M. and Staufenbiel, M. (2001) Abeta-induced inflammatory processes in microglia cells of APP23 transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 158, 63-73.
- Bowdish, D. and Gordon, S. (2009) Conserved domains of the class A scavenger receptors: evolution and function. *Immunol. Rev.* 227, 19-31.
- Braak, H. and Del Tredici, K. (2011) Alzheimer's pathogenesis: is there neuron-to-neuron propagation? *Acta Neuropathol.* 121, 589-595.

- Brown, G. and Bal-Price, A. (2003) Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. *Mol. Neurobiol.* 27, 325-355.
- Buga, G., Frank, J., Mottino, G., Hendizadeh, M., Hakhamian, A., Tillisch, JH., Reddy, ST., Navab, M., Anantharamaiah, GM., Ignarro, LJ. and Fogelman, AM. (2006) D-4F decreases brain arteriole inflammation and improves cognitive performance in LDL receptor-null mice on a Western diet. *J. Lipid Res.* 47, 2148-2160.
- Canton, J., Neculai, D. and Grinstein, S. (2013) Scavenger receptors in homeostasis and immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 13, 621-634.
- Coric, V., Dyck, C., Salloway, S., Andreasen, N., Brody, M., Richter, RW., Soininen, H., Thein, S., Shiovitz, T., Pilcher, G., Colby, S., Rollin, L., Dockens, R., Pachai, C., Portelius, E., Andreasson, U., Blennow, K., Soares, H., Albright, C., Feldman, HH. and Berman, RM. (2012) Safety and tolerability of the γ -secretase inhibitor avagacestat in a phase 2 study of mild to moderate Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 69, 1430-1440.
- Cornejo, FA. and von Bernhardi, R. (2013) Role of scavenger receptors in glia-mediated neuroinflammatory response associated with Alzheimer's disease. *Mediators Inflamm.* 2013, 895651.
- Coyle, J., Price, D. and DeLong, M. (1983) Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*, 219.
- Chen, Y., Wermeling, F., Sundqvist, J., Jonsson, A.-B., Tryggvason, K., Pikkarainen, T. and Karlsson, M. (2010) A regulatory role for macrophage class A scavenger receptors in TLR4-mediated LPS responses. *Eur. J. Immunol.* 40, 1451-1460.
- Christie, R., Freeman, M. and Hyman, B. (1996) Expression of the macrophage scavenger receptor, a multifunctional lipoprotein receptor, in microglia associated with senile plaques in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 148, 399-403.
- Chung, H., Brazil, M., Irizarry, M., Hyman, B. and Maxfield, F. (2001) Uptake of fibrillar beta-amyloid by microglia isolated from MSR-A (type I and type II) knockout mice. *Neuroreport.* 12, 1151-1154.
- de Winther, M., van Dijk, K., van Vlijmen, B., Gijbels, MJ., Heus, JJ., Wijers, ER., van den Bos, AC., Breuer, M., Frants, RR., Havekes, LM. and Hofker, MH. (1999) Macrophage specific overexpression of the human macrophage scavenger receptor in transgenic mice, using a 180-kb yeast artificial chromosome, leads to enhanced foam cell formation of isolated peritoneal macrophages. *Atherosclerosis.* 147, 339-347.
- Del Bo, R., Angeretti, N., Lucca, E., De Simoni, M. and Forloni, G. (1995) Reciprocal control of inflammatory cytokines, IL-1 and IL-6, and beta-amyloid production in cultures. *Neurosci. Lett.* 188, 70-74.
- Doody, R., Raman, R., Farlow, M., Iwatsubo, T., Vellas, B., Joffe, S., Kieburtz, K., He, F., Sun, X., Thomas, RG., Aisen, PS., Alzheimer's Disease Cooperative Study Steering Committee; Siemers, E., Sethuraman, G., Mohs, R. and Semagacestat Study Group. (2013) A phase 3 trial of semagacestat for treatment of Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 369, 341-350.
- Drachman, D. (1977) Memory and cognitive function in man: does the cholinergic system have a specific role? *Neurology.* 27, 783-790.
- El Khoury, J., Hickman, SE., Thomas, CA., Cao, L., Silverstein, SC. and Loike, JD. (1996) Scavenger receptor-mediated adhesion of microglia to beta-amyloid fibrils. *Nature.* 382, 716-719.
- Ferri, C., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jorm, A., Mathers, C., Menezes, PR., Rimmer, E., Scazufca, M. and Alzheimer's Disease International. (2005) Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet.* 366, 2112-2117.
- Fillit, H., Ding, WH., Buee, L., Kalman, J., Altstiel, L., Lawlor, B. and Wolf-Klein, G. (1991) Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 129, 318-320.
- Fioravanzo, L., Venturini, M., Di Liddo, R., Liddo, R., Marchi, F., Grandi, C., Parnigotto, P. and Folin, M. (2010) Involvement of rat hippocampal astrocytes in β -amyloid-induced angiogenesis and neuroinflammation. *Curr. Alzheimer Res.* 7, 591-601.
- Fraser, I., Hughes, D. and Gordon, S. (1993) Divalent cation-independent macrophage adhesion inhibited by monoclonal antibody to murine scavenger receptor. *Nature.* 364, 343-346.
- Frautschy, S., Yang, F., Irizarry, M., Hyman, B., Saido, T., Hsiao, K. and Cole, G. (1998) Microglial response to amyloid plaques in APPsw transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 152, 307-317.
- Frenkel, D., Wilkinson, K., Zhao, L., Hickman, SE., Means, TK., Puckett, L., Farfara, D., Kingery, ND., Weiner, HL. and El Khoury, J. (2013) ScarA1 deficiency impairs clearance of soluble amyloid- β by mononuclear phagocytes and accelerates Alzheimer's-like disease progression. *Nat. Commun.* 4, 2030.
- Ganapathy, E., Su, F., Meriwether, D., Devarajan, A., Grijalva, V., Gao, F., Chattopadhyay, A., Anantharamaiah, GM., Navab, M., Fogelman, AM., Reddy, ST. and Farias-Eisner, R. (2012) D-4F, an apoA-I mimetic peptide, inhibits proliferation and tumorigenicity of epithelial ovarian cancer cells by upregulating the antioxidant enzyme MnSOD. *Int. J. Cancer.* 130, 1071-1081.
- Gilman, S., Koller, M., Black, R., Jenkins, L., Griffith, SG., Fox, NC., Eisner, L., Kirby, L., Rovira, MB., Forette, F., Orgogozo, JMM and AN1792(QS-21)-201 Study Team. (2005) Clinical effects of Abeta immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology.* 64, 1553-1562.
- Godoy, B., Murgas, P., Tichauer, J. and Von Bernhardi, R. (2012) Scavenger receptor class A ligands induce secretion of IL1 β and exert a modulatory effect on the inflammatory activation of astrocytes in culture. *J. Neuroimmunol.* 251, 6-13.
- Goldstein, J., Ho, Y., Basu, S. and Brown, M. (1979) Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76, 333-337.
- Green, R., Schneider, L., Amato, D., Beelen, A., Wilcock, G., Swabb, E., Zavitz, K. and Tarenflur bil Phase 3 Study, G. (2009) Effect of tarenflur bil on cognitive decline and activities of daily living in patients with mild Alzheimer disease: a randomized controlled trial. *J. Am. Med. Assoc.* 302, 2557-2564.
- Grutzendler, J. and Morris, J. (2001) Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Drugs.* 61, 41-52.
- Halliday, G., Robinson, S., Shepherd, C. and Kril, J. (2000) Alzheimer's disease and inflammation: a review of cellular and therapeutic mechanisms. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 27, 1-8.
- Handattu, S., Garber, D., Monroe, C., van Groen, T., Kadish, I., Nayyar, G., Cao, D., Palgunachari, MN., Li, L. and Anantharamaiah, GM. (2009) Oral apolipoprotein A-I mimetic peptide improves cognitive function and reduces amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* 34, 525-534.
- Handattu, S., Monroe, C., Nayyar, G., Palgunachari, M., Kadish, I., van Groen, T., Anantharamaiah, G. and Garber, D. (2013) In vivo and in vitro effects of an apolipoprotein e mimetic peptide on amyloid- β pathology. *J. Alzheimers Dis.* 36, 335-347.
- Hardy, J. and Allsop, D. (1991) Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 12, 383-388.
- Hendrickx, D., Koning, N., Schuurman, K., van Strien, M., van Eden, C., Hamann, J. and Huitinga, I. (2013) Selective upregulation of scavenger receptors in and around demyelinating areas in multiple sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 72, 106-118.

- Hickman, S., Allison, E. and El Khoury, J. (2008) Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *J. Neurosci.* 28, 8354-8360.
- Ho, G., Drego, R., Hakimian, E. and Masliah, E. (2005) Mechanisms of cell signaling and inflammation in Alzheimer's disease. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* 4, 247-256.
- Holmes, C., Cunningham, C., Zotova, E., Woolford, J., Dean, C., Kerr, S., Culliford, D. and Perry, V. H. (2009) Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Neurology.* 73, 768-774.
- Hu, Y., Zhang, H., Lu, Y., Bai, H., Xu, Y., Zhu, X., Zhou, R., Ben, J., Xu, Y. and Chen, Q. (2011) Class A scavenger receptor attenuates myocardial infarction-induced cardiomyocyte necrosis through suppressing M1 macrophage subset polarization. *Basic Res. Cardiol.* 106, 1311-1328.
- Huang, F., Buttini, M., Wyss-Coray, T., McConlogue, L., Kodama, T., Pitas, RE. and Mucke, L. (1999) Elimination of the class A scavenger receptor does not affect amyloid plaque formation or neurodegeneration in transgenic mice expressing human amyloid protein precursors. *Am. J. Pathol.* 155, 1741-1747.
- Hughes, DA., Fraser, IP. and Gordon, S. (1995) Murine macrophage scavenger receptor: in vivo expression and function as receptor for macrophage adhesion in lymphoid and non-lymphoid organs. *Eur. J. Immunol.* 25, 466-473.
- Jack, CR., Jr., Knopman, DS., Weigand, SD., Wiste, HJ., Vemuri, P., Lowe, V., Kantarci, K., Gunter, JL., Senjem, ML., Ivnik, RJ., Roberts, RO., Rocca, WA., Boeve, BF. and Petersen, RC. (2012) An operational approach to National Institute on Aging-Alzheimer's Association criteria for preclinical Alzheimer disease. *Ann. Neurol.* 71, 765-775.
- Kahn, MS., Kranjac, D., Alonzo, CA., Haase, JH., Cedillos, RO., McLinden, KA., Boehm, GW. and Chumley, MJ. (2012) Prolonged elevation in hippocampal Abeta and cognitive deficits following repeated endotoxin exposure in the mouse. *Behav. Brain Res.* 229, 176-184.
- Kamer, AR., Craig, RG., Pirraglia, E., Dasanayake, AP., Norman, RG., Boylan, RJ., Nehorayoff, A., Glodzik, L., Brys, M. and de Leon, MJ. (2009) TNF-alpha and antibodies to periodontal bacteria discriminate between Alzheimer's disease patients and normal subjects. *J. Neuroimmunol.* 216, 92-97.
- Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M. and Verkhratsky, A. (2011) Physiology of microglia. *Physiol. Rev.* 91, 461-553.
- Kitazawa, M., Oddo, S., Yamasaki, TR., Green, KN. and LaFerla, FM. (2005) Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 25, 8843-8853.
- Kobayashi, Y., Miyajima, C., Watanabe, H., Umezumi, H., Hasegawa, G., Abo, T., Arakawa, M., Kamata, N., Suzuki, H., Kodama, T. and Naito, M. (2000) Role of macrophage scavenger receptor in endotoxin shock. *J. Pathol.* 192, 263-272.
- Krstic, D. and Knuesel, I. (2013) Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 25-34.
- Krstic, D., Madhusudan, A., Doehner, J., Vogel, P., Notter, T., Imhof, C., Manalastas, A., Hilfiker, M., Pfister, S., Schwerdel, C., Riether, C., Meyer, U. and Knuesel, I. (2012) Systemic immune challenges trigger and drive Alzheimer-like neuropathology in mice. *J. Neuroinflammation.* 9, 151.
- Lannfelt, L., Relkin, N. and Siemers, E. (2014) Amyloid-β-directed immunotherapy for Alzheimer's disease. *J. Int. Med.* 275, 284-295.
- Laske, C. (2014) Phase 3 trials of solanezumab and bapineuzumab for Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 370, 1459.
- Lee, J. W., Lee, Y. K., Yuk, D. Y., Choi, D. Y., Ban, S. B., Oh, K. W. and Hong, J. T. (2008) Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. *J. Neuroinflammation.* 5, 37.
- Ling, W., Loughheed, M., Suzuki, H., Buchan, A., Kodama, T. and Steinbrecher, U. P. (1997) Oxidized or acetylated low density lipoproteins are rapidly cleared by the liver in mice with disruption of the scavenger receptor class A type I/II gene. *J. Clin. Invest.* 100, 244-252.
- Lu, C., Hua, F., Liu, L., Ha, T., Kalbfleisch, J., Schweitzer, J., Kelley, J., Kao, R., Williams, D. and Li, C. (2010) Scavenger receptor class-A has a central role in cerebral ischemia-reperfusion injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 30, 1972-1981.
- Lysko, P., Weinstock, J., Webb, C., Brawner, M. and Elshourbagy, N. (1999) Identification of a small-molecule, nonpeptide macrophage scavenger receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289, 1277-1285.
- Misonou, H., Morishima-Kawashima, M. and Ihara, Y. (2000) Oxidative stress induces intracellular accumulation of amyloid beta-protein (Aβeta) in human neuroblastoma cells. *Biochem.* 39, 6951-6959.
- Murgas, P., Cornejo, FA., Merino, G. and von Bernhardi, R. (2013) SR-A Regulates the Inflammatory Activation of Astrocytes. *Neurotox. Res.* 25, 68-80.
- Murgas, P., Godoy, B. and von Bernhardi, R. (2012) Aβ potentiates inflammatory activation of glial cells induced by scavenger receptor ligands and inflammatory mediators in culture. *Neurotox. Res.* 22, 69-78.
- Nakajima, K., Honda, S., Tohyama, Y., Imai, Y., Kohsaka, S. and Kurihara, T. (2001) Neurotrophin secretion from cultured microglia. *J. Neurosci. Res.* 65, 322-331.
- Neyen, C., Plüddemann, A., Mukhopadhyay, S., Maniati, E., Bossard, M., Gordon, S. and Hagemann, T. (2013) Macrophage scavenger receptor A promotes tumor progression in murine models of ovarian and pancreatic cancer. *J. Immunol.* 190, 3798-3805.
- Ohnishi, K., Komohara, Y., Fujiwara, Y., Takemura, K., Lei, X., Nakagawa, T., Sakashita, N. and Takeya, M. (2011) Suppression of TLR4-mediated inflammatory response by macrophage class A scavenger receptor (CD204). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 411, 516-522.
- Orgogozo, JM., Gilman, S., Dartigues, JF., Laurent, B., Puel, M., Kirby, LC., Jouanny, P., Dubois, B., Eisner, L., Flitman, S., Michel, BF., Boada, M., Frank, A. and Hock, C. (2003) Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology.* 61, 46-54.
- Paresce, DM., Ghosh, RN. and Maxfield, FR. (1996) Microglial cells internalize aggregates of the Alzheimer's disease amyloid beta-protein via a scavenger receptor. *Neuron.* 17, 553-565.
- Platt, N., Suzuki, H., Kodama, T. and Gordon, S. (2000) Apoptotic thymocyte clearance in scavenger receptor class A-deficient mice is apparently normal. *J. Immunol.* 164, 4861-4867.
- Poston, R. and Davies, D. (1974) Immunity and inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis. A review. *Atherosclerosis.* 19, 353-367.
- Qiu, W., Walsh, D., Ye, Z., Vekrellis, K., Zhang, J., Podlisny, MB., Rosner, MR., Safavi, A., Hersh, LB. and Selkoe, DJ. (1998) Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *J. Biol. Chem.* 273, 32730-32738.
- Ramírez, G., Toro, R., Döbeli, H. and von Bernhardi, R. (2005) Protection of rat primary hippocampal cultures from A beta cytotoxicity by pro-inflammatory molecules is mediated by astrocytes. *Neurobiol. Dis.* 19, 243-254.
- Resnick, D., Chatterton, JE., Schwartz, K., Slayter, H. and Krieger, M. (1996) Structures of class A macrophage scavenger receptors. Electron microscopic study of flexible, multidomain, fibrous proteins and determination of the disulfide bond pattern of the scavenger receptor cysteine-rich domain. *J. Biol. Chem.* 271, 26924-26930.
- Ringheim, G., Szczepanik, A., Petko, W., Burgher, K., Zhu, S. and Chao, C. (1998) Enhancement of beta-amyloid precursor protein transcription

- and expression by the soluble interleukin-6 receptor/interleukin-6 complex. *Mol. Brain Res.* 55, 35-44.
- Rogawski, M. and Wenk, G. (2003) The neuropharmacological basis for the use of memantine in the treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drug Rev.* 9, 275-308.
- Rossner, S., Lange-Dohna, C., Zeitschel, U. and Perez-Polo, J. (2005) Alzheimer's disease beta-secretase BACE1 is not a neuron-specific enzyme. *J. Neurochem.* 92, 226-234.
- Rubio-Perez, J. and Morillas-Ruiz, J. (2012) A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *ScientificWorldJournal*, 2012, 756357.
- Sakaguchi, H., Takeya, M., Suzuki, H., Hakamata, H., Kodama, T., Horiuchi, S., Gordon, S., van der Laan, L.J., Kraal, G., Ishibashi, S., Kitamura, N. and Takahashi, K. (1998) Role of macrophage scavenger receptors in diet-induced atherosclerosis in mice. *Lab. Invest.* 78, 423-434.
- Salloway, S., Sperling, R., Gilman, S., Fox, NC., Blennow, K., Raskind, M., Sabbagh, M., Honig, LS., Doody, R., van Dyck, CH., Mulnard, R., Barakos, J., Gregg, KM., Liu, E., Lieberburg, I., Schenk, D., Black, R., Grundman, M. and Bapineuzumab 201 Clinical Trial Investigators (2009) A phase 2 multiple ascending dose trial of bapineuzumab in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology.* 73, 2061-2070.
- Salloway, S., Sperling, R., Keren, R., Porsteinsson, AP., van Dyck, CH., Tariot, PN., Gilman, S., Arnold, D., Abushakra, S., Hernandez, C., Crans, G., Liang, E., Quinn, G., Bairu, M., Pastrak, A., Cedarbaum, JM. and ELND005-AD201 Investigators (2011) A phase 2 randomized trial of ELND005, scyllo-inositol, in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology.* 77, 1253-1262.
- Savva, GM., Wharton, SB., Ince, PG., Forster, G., Matthews, FE. and Brayne, C. (2009) Age, neuropathology, and dementia. *N. Engl. J. Med.* 360, 2302-2309.
- Schenk, D., Barbour, R., Dunn, W., Gordon, G., Grajeda, H., Guido, T., Hu, K., Huang, J., Johnson-Wood, K., Khan, K., Kholodenko, D., Lee, M., Liao, Z., Lieberburg, I., Motter, R., Mutter, L., Soriano, F., Shopp, G., Vasquez, N., Vandeventer, C., Walker, S., Wogulis, M., Yednock, T., Games, D. and Seubert, P. (1999) Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature.* 400, 173-177.
- Schneider, L., Dagerman, K., Higgins, J. and McShane, R. (2011) Lack of evidence for the efficacy of memantine in mild Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 68, 991-998.
- Schneider, L., Mangialasche, F., Andreasen, N., Feldman, H., Giacobini, E., Jones, R., Mantua, V., Mecocci, P., Pani, L., Winblad, B. and Kivipelto, M. (2014) Clinical trials and late-stage drug development for Alzheimer's disease: an appraisal from 1984 to 2014. *J. Int. Med.* 275, 251-283.
- Segers, F., Yu, H., Molenaar, T., Prince, P., Tanaka, T., van Berkel, T. and Biessen, E. (2012) Design and validation of a specific scavenger receptor class AI binding peptide for targeting the inflammatory atherosclerotic plaque. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32, 971-978.
- Sheng, JG., Bora, SH., Xu, G., Borchelt, DR., Price, DL. and Koliatsos, VE. (2003) Lipopolysaccharide-induced-neuroinflammation increases intracellular accumulation of amyloid precursor protein and amyloid beta peptide in APPsw transgenic mice. *Neurobiol. Dis.* 14, 133-145.
- Sherman, C., Peterson, S. and Frishman, W. (2010) Apolipoprotein A-I mimetic peptides: a potential new therapy for the prevention of atherosclerosis. *Cardiol. Rev.* 18, 141-147.
- Singh, VK. and Guthikonda, P. (1997) Circulating cytokines in Alzheimer's disease. *J. Psychiatr. Res.* 31, 657-660.
- Sly, LM., Krzesicki, RF., Brashler, JR., Buhl, AE., McKinley, DD., Carter, DB. and Chin, JE. (2001) Endogenous brain cytokine mRNA and inflammatory responses to lipopolysaccharide are elevated in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res. Bull.* 56, 581-588.
- Su, F., Kozak, K., Imaizumi, S., Gao, F., Amneus, MW., Grijalva, V., Ng, C., Wagner, A., Hough, G., Farias-Eisner, G., Anantharamaiah, GM., Van Lenten, BJ., Navab, M., Fogelman, AM., Reddy, ST. and Farias-Eisner, R. (2010) Apolipoprotein AI (apoA-I) and apoA-I mimetic peptides inhibit tumor development in a mouse model of ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107, 19997-20002.
- Suzuki, H., Kurihara, Y., Takeya, M., Kamada, N., Kataoka, M., Jishage, K., Ueda, O., Sakaguchi, H., Higashi, T., Suzuki, T., Takashima, Y., Kawabe, Y., Cynshi, O., Wada, Y., Honda, M., Kurihara, H., Aburatani, H., Doi, T., Matsumoto, A., Azuma, S., Noda, T., Toyoda, Y., Itakura, H., Yazaki, Y. and Kodama, T. (1997) A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature.* 386, 292-296.
- Tan, CC., Yu, JT., Wang, HF., Tan, MS., Meng, XF., Wang, C., Jiang, T., Zhu, XC. and Tan, L. (2014) Efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Alzheimers Dis.* 41, 615-631.
- Thomas, CA., Li, Y., Kodama, T., Suzuki, H., Silverstein, SC. and El Khoury, J. (2000) Protection from lethal gram-positive infection by macrophage scavenger receptor-dependent phagocytosis. *J. Exp. Med.* 191, 147-156.
- Town, T., Nikolic, V. and Tan, J. (2005) The microglial "activation" continuum: from innate to adaptive responses. *J. neuroinflamm.* 2, 24.
- Usui, H., Shikata, K., Sasaki, M., Okada, S., Matsuda, M., Shikata, Y., Ogawa, D., Kido, Y., Nagase, R., Yozai, K., Ohga, S., Tone, A., Wada, J., Takeya, M., Takeya, M., Horiuchi, S., Kodama, T. and Makino, H. (2007) Macrophage scavenger receptor-a-deficient mice are resistant against diabetic nephropathy through amelioration of microinflammation. *Diabetes.* 56, 363-372.
- van Velzen, AG., Suzuki, H., Kodama, T. and van Berkel, TJ. (1999) The role of scavenger receptor class A in the adhesion of cells is dependent on cell type and cellular activation state. *Exp. Cell Res.* 250, 264-271.
- von Bernhardi, R. (2007) Glial cell dysregulation: a new perspective on Alzheimer disease. *Neurotox. Res.* 12, 215-232.
- von Bernhardi, R. (2010) Immunotherapy in Alzheimer's disease: where do we stand? Where should we go? *J. Alzheimers Dis.* 19, 405-421.
- von Bernhardi, R. and Eugenín, J. (2004) Microglial reactivity to beta-amyloid is modulated by astrocytes and proinflammatory factors. *Brain Res.* 1025, 186-193.
- von Bernhardi, R., Tichauer, J. and Eugenín, J. (2010) Aging-dependent changes of microglial cells and their relevance for neurodegenerative disorders. *J. Neurochem.* 112, 1099-1114.
- Wang, S., Yu, Y., Geng, S., Wang, D., Zhang, L., Xie, X., Wu, B., Li, C., Xu, H., Li, X., Hu, Y., Zhang, L., Kaether, C. and Wang, B. (2014) A coimmunization vaccine of A β 42 ameliorates cognitive deficits without brain inflammation in an Alzheimer's disease model. *Alzheimers Res. Ther.* 6, 26.
- Wang, XY., Facciponte, J., Chen, X., Subjeck, J. and Repasky, E. (2007) Scavenger receptor-A negatively regulates antitumor immunity. *Cancer Res.* 67, 4996-5002.
- White, CR., Garber, DW. and Anantharamaiah, GM. (2014) Anti-inflammatory and cholesterol reducing properties of apolipoprotein mimetics: A review. *J. Lipid Res.*
- White, J., Manelli, A., Holmberg, K., Van Eldik, L. and Ladu, M. (2005) Differential effects of oligomeric and fibrillar amyloid-beta 1-42 on astrocyte-mediated inflammation. *Neurobiol. Dis.* 18, 459-465.
- Whitehouse, P., Price, D., Clark, A., Coyle, J. and DeLong, M. (1981) Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann. Neurol.* 10, 122-126.

- Wirth, M., Madison, CM., Rabinovici, GD., Oh, H., Landau, SM. and Jagust, WJ. (2013) Alzheimer's disease neurodegenerative biomarkers are associated with decreased cognitive function but not beta-amyloid in cognitively normal older individuals. *J. Neurosci.* 33, 5553-5563.
- Wölle, S., Via, D., Chan, L., Cornicelli, J. and Bisgaier, C. (1995) Hepatic overexpression of bovine scavenger receptor type I in transgenic mice prevents diet-induced hyperbetalipoproteinemia. *J. Clin. Inv.* 96, 260-272.
- Wyss-Coray, T. (2006) Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? *Nat. Med.* 12, 1005-1015.
- Xu, J., Zheng, S., Komiya, A., Mychaleckyj, JC., Isaacs, SD., Hu, JJ., Sterling, D., Lange, EM., Hawkins, GA., Turner, A., Ewing, CM., Faith, DA., Johnson, JR., Suzuki, H., Bujnovszky, P., Wiley, KE., DeMarzo, AM., Bova, GS., Chang, B., Hall, MC., McCullough, DL., Partin, AW., Kassabian, VS., Carpten, JD., Bailey-Wilson, JE., Trent, JM., Ohar, J., Bleecker, ER., Walsh, PC., Isaacs, WB. and Meyers, DA. (2002) Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nat. Genet.* 32, 321-325.
- Yi, H., Yu, X., Gao, P., Wang, Y., Baek, SH., Chen, X., Kim, H., Subjeck, J. and Wang, XY. (2009) Pattern recognition scavenger receptor SRA/CD204 down-regulates Toll-like receptor 4 signaling-dependent CD8 T-cell activation. *Blood.* 113, 5819-5828.
- Yu, H., Ha, T., Liu, L., Wang, X., Gao, M., Kelley, J., Kao, R., Williams, D. and Li, C. (2012) Scavenger receptor A (SR-A) is required for LPS-induced TLR4 mediated NF- κ B activation in macrophages. *Biochem. Biophys. Acta.* 1823, 1192-1198.
- Yu, X., Yi, H., Guo, C., Zuo, D., Wang, Y., Kim, H., Subjeck, J. and Wang, XY. (2011) Pattern recognition scavenger receptor CD204 attenuates Toll-like receptor 4-induced NF- κ B activation by directly inhibiting ubiquitination of tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factor 6. *J. Biol. Chem.* 286, 18795-18806.
- Zhang, H., Su, YJ., Zhou, WW, Wang, SW, Xu, PX, Yu, XL. and Liu, RT. (2014) Activated scavenger receptor A promotes glial internalization of $\alpha\beta$. *PLoS One.* 9.
- Zuliani, G., Ranzini, M., Guerra, G., Rossi, L., Munari, MR., Zurlo, A., Volpato, S., Atti, AR., Blè, A. and Fellin, R. (2007) Plasma cytokines profile in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J. Psychiatr. Res.* 41, 686-693.

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la demencia de mayor prevalencia en el mundo, y el número de pacientes aumenta constantemente debido al envejecimiento de la población. Siendo la causa principal de esta enfermedad desconocida, todos los enfoques terapéuticos utilizados hasta la fecha no han sido efectivos; situando a la EA como un síndrome multifactorial que aparentemente carece de un blanco único al cual atacar de modo de prevenir su progresión. Entre las posibles moléculas implicadas en la EA, se ha demostrado que los receptores scavenger de clase A (SR-A) participan en la fagocitosis del β -amiloide y en la activación glial inducida por estímulos inflamatorios. En esta revisión se presentará la participación del SR-A en varias patologías crónicas, entre ellas la EA y la aterosclerosis, así como las aproximaciones farmacológicas utilizadas para modular su actividad y su expresión. Por último, se revisará su papel en la activación glial y su posible participación en las alteraciones gliales observadas en la EA, y se discutirá la evidencia más reciente que propone a SR-A como un potencial blanco para el tratamiento de esta enfermedad.

Palabras Claves: β -amiloide, glía, enfermedades neurodegenerativas, neuroinflamación, SR-A.

Rev. Farmacol. Chile (2014) 7(3) 7-16

Recibido 15-09-2014; Revisado 20-09-2014; Aceptado 26-09-2014

REVIEW ARTICLE

**NEW INSIGHTS OF BRAIN RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM FAR BEYOND BLOOD PRESSURE:
CENTRAL ANGIOTENSIN II AS A KEY MODULATOR IN THE STRESS RESPONSE AND
AMPHETAMINE INDUCED-NEUROADAPTATIONS**

(Nuevas perspectivas en la función del sistema renina angiotensina cerebral fuera del control de la presión arterial: Angiotensina II central como modulador clave en la respuesta de estrés y las neuroadaptaciones inducidas por anfetamina)

Natalia A. Marchese¹, Iara Rodriguez¹, Victoria Occhieppo¹, Maria C. Paz¹, Gustavo Baiardi² and Claudia Bregonzio¹

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, IFEC-CONICET, Córdoba, Argentina;

²Laboratorio de Neurofarmacología, IIBYT-CONICET Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.

ABSTRACT

Angiotensin II is known as a peripheral hormone involved in the control of blood pressure and fluids homeostasis. The study and characterization of angiotensin II and its receptors at the brain has opened a new vision of its physiological role and also offers a variety of research fields. Brain angiotensin II is a well-documented neuromodulator of multiple brain circuits. In this sense, angiotensin II is involved in the stress response and both, the brain and the peripheral (hormonal), angiotensin II systems are stimulated during stress. Activation of brain angiotensin II AT₁ receptors is required for the stress-induced hormone secretion, including corticotropin-releasing hormone, adrenocorticotrophic hormone, corticoids and vasopressin and for stimulation of the central sympathetic activity. The blockade of peripheral but also brain AT₁ receptors prevents the hormonal and sympathoadrenal response to stress. Moreover, AT₁ receptors activation is involved in natural reward responses and in the regulation of some responses induced by drugs of abuse such as cocaine, amphetamine, alcohol, among others. Exposure to amphetamine induces neuroadaptations that modify behavioral responses to future pharmacological or environmental challenges. It is important to consider that studies on the physiological role of brain Ang II offer new pharmacological tools for the treatment of stress and psychostimulants' related disorders.

Keywords: Angiotensin II, AT₁ receptors, Stress, Amphetamine, sensitization.

Rev. Farmacol. Chile (2014) 7(3) 17-25

Received 02-09-2014; Revised 15-09-2014; Accepted 16-09-2014

1) INTRODUCTION

Angiotensin II (Ang II) was first discovered in 1940 and described as a hormone of peripheral origin (Braun-Menéndez et al. 1940). The complete system, known as renin-angiotensin system (RAS), was then characterized; synthesis and metabolism enzymes were identified at peripheral level. The precursor molecule is angiotensinogen which originates in the liver and is cleaved by renin, a renal aspartyl protease, resulting in an (precursor) inactive decapeptide angiotensin I. The latter is converted into the octapeptide Ang II by the action of angiotensin converting enzyme (ACE), a dipeptidyl

carboxypeptidase circulating or integral membrane protein that also cleaves and inactivates bradykinin.

The main actions of Ang II include vasoconstriction; stimulation of aldosterone release, sodium and water reabsorption and it also has a key role in regulating blood pressure and fluid homeostasis.

All components of RAS were found in the brain tissue, including Ang II receptors, indicating that they have different roles as a hormone or neuromodulator in the central nervous system.

Correspondence to: Dr. Claudia Bregonzio, Instituto de Farmacología Experimental Córdoba (IFEC-CONICET), Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Address: Haya de la Torre S/N, esquina Medina Allende. Edificio Nuevo de Ciencias I Ciudad Universitaria Córdoba, Argentina. Phone: 54-351-4334437, Fax: 54-351-4334420, E-mail: bregonzio@fcq.unc.edu.ar

Also local RAS has been found in other tissues or organs such as vessel walls, adrenal gland, heart, gonads, adipose tissue, pituitary gland, lung, stomach, pancreas and skeletal muscle (Lavoie & Sigmund 2003, Danser 2003). The role of Ang II at the periphery and in the central nervous system is vast and complex; for this reason, this review will be focused in the role of brain RAS in stress responses and psychostimulant abuse as a related disorder from many other important aspects of Ang II research.

2) ANGIOTENSIN II RECEPTORS

Pharmacological studies have described two major subtypes of Ang II receptors in mammal's cells named AT₁ and AT₂ receptors, both with seven-transmembrane domains. They were first characterized by their affinity to specific ligands and then by molecular cloning (Iwai & Inagami 1992). Most species expressed single AT₁ receptors, but later two subtypes designated AT_{1A} and AT_{1B} receptors were discovered, which have been cloned in rats (Iwai & Inagami 1992, Kakar *et al.* 1992), mice (Sadamura *et al.* 1992) and humans (Konoshi *et al.* 1994). AT_{1A} isoform is responsible for the functions associated with the brain Ang II system (Saavedra 1999, Thomas & Mendelsohn 2003), so we refer to it as AT₁ receptor.

AT₁ receptors are coupled to G protein producing MAPKinas activation and they mediate the major physiological and pathophysiological actions known of Ang II (Hunyady & Catt 2006). Also, the AT₁ receptor activation can stimulate signaling pathways independent of G protein, such as arrestins and tyrosine kinases (Claing *et al.* 2002, Gaborik & Hunyady 2004, Luttrell & Lefkowitz 2002, Prossnitz 2004, Thomas & Quian 2003). When activated by agonists, the arrestin binds to G protein coupled receptors and causes desensitization of these receptors by uncoupling the binding to the G protein. From there, the AT₁ receptor binds to β arrestin with clathrin producing receptor endocytosis and internalization.

On the contrary, AT₂ receptors do not exhibit the same characteristics and act mainly through Gi and tyrosine phosphatases (Bottari *et al.* 1991, De Gasparo & Siragy 1999, Kambayashi *et al.* 1993, Mukoyama *et al.* 1993) to exert inhibitory action predominantly upon cellular responses mediated by AT₁ receptors and growth factor receptors (De Gasparo & Siragy 1999, Speth *et al.* 1995).

3) NON-PEPTIDE ANTAGONISTS OF ANGIOTENSIN II RECEPTORS

In 1995, the United States Food and Drug Administration approved losartan for clinical use. Since then, five new AT₁ receptor antagonists have been approved (Jackson 2002). These antagonists are diphenylmethylic or acid diphenylmethyl tienylmetilacrylic derivatives. These drugs

bind to the receptor with high affinity and show high selectivity for the AT₁ receptor 10,000 times higher than for the AT₂. The ranges of affinity for the receptor are candesartan (CV) > irbesartan > valsartan = telmisartan = EXP 3147 (active metabolite of losartan) > losartan (Los). Clinical studies using both ACE inhibitors and AT₁ receptor blockers have shown that RAS functions extend far beyond the control of blood pressure (Ferrario *et al.* 2004). These agents have a beneficial effect on the deleterious actions of Ang II on local cardiovascular and renal function in patients with hypertension, left ventricular hypertrophy, heart failure and diabetic nephropathy. In addition, the use of AT₁ blockers produces a decrease in the number of AT₁ receptors and stimulates the Ang II and AT₂ receptor synthesis (Seltzer *et al.* 2004). The increased Ang II exerts its actions primarily on the AT₂ receptor, but it is unclear whether the stimulation of AT₂ receptors contributes to the therapeutic effect of AT₁ antagonists.

4) BRAIN ANGIOTENSIN II

Ang II produced at the peripheral level does not cross the blood-brain barrier (BBB) but stimulates AT₁ receptors in circumventricular organs located outside the BBB (Saavedra 1992). However, a novel Ang II-mediated feed-forward mechanism during hypertension, has been recently revealed by which circulating Ang II evokes increased BBB permeability facilitating, in turn, its access to critical brain regions known to participate in blood pressure regulation (Biancardi *et al.* 2014). The central RAS is capable to produce Ang II and to stimulate receptors in brain areas inside the BBB (Mendelsohn *et al.* 1984). There are detailed neuroanatomical descriptions of the localization of AT₁ and AT₂ receptors. Both Ang II and its receptors have been found located on neurons (Saavedra 1992). The presence of both subtypes of Ang II receptors in astrocytes and oligodendrocytes in the cerebral white matter has also been demonstrated. This last, suggests that glial cells may play a more important role in the brain RAS than it was initially assumed (Fogarty & Matute 2001).

Both receptor subtypes are present in all mammalian species including humans with a similar distribution, although not identical. While AT₁ receptors predominate in adulthood, AT₂ receptors are expressed in the developing brain (Saavedra 1992). AT₁ receptors are found in brain areas related to the control of neuroendocrine function and autonomic regulation of cardiovascular function and the limbic system while AT₂ receptors in the brain seem to have a role in organogenesis and function of sensory and motor systems (Phillips & Sumners 1998). The role of Ang II in the brain is complex, ranging from control of the autonomic system, hormonal system, sensory processes and cognition to the regulation of cerebrovascular flow (Saavedra 1992).

5) ROLE OF ANGIOTENSIN II IN THE STRESS RESPONSE

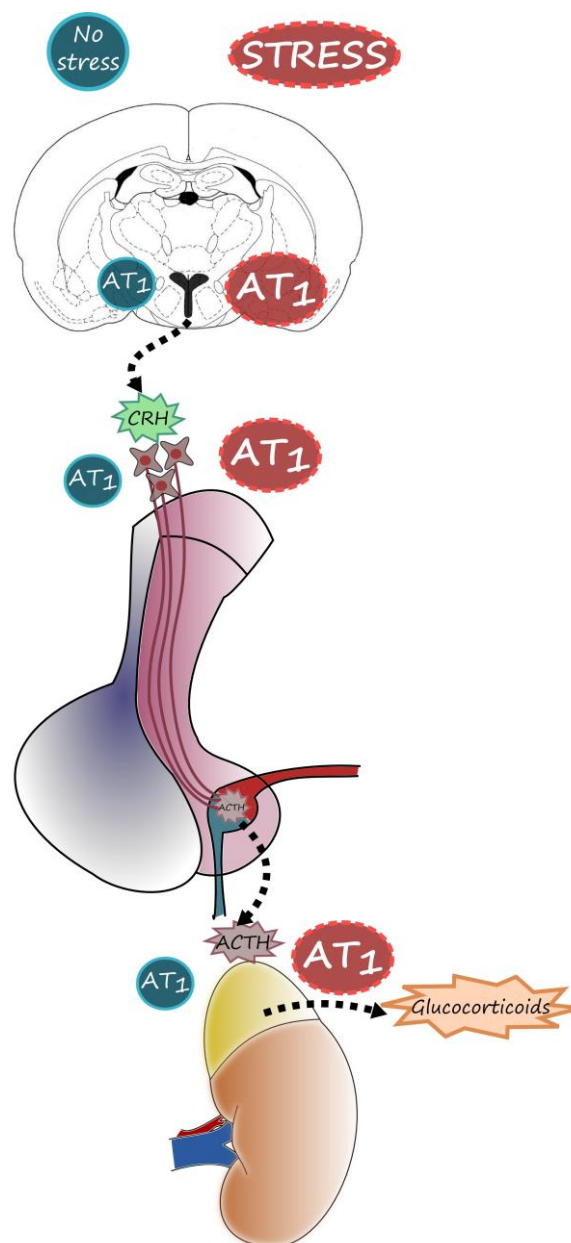
There is pharmacological, neuroanatomical and physiological evidence showing a key role of Ang II in brain responses to stress, which also includes the regulation of neuroendocrine and sympathetic nervous system (Aguilera *et al.* 1995b, Armando *et al.* 2001, Baiardi *et al.* 2004). The presence of AT₁ receptors has been established at all levels of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, being more focused on key areas in the control of the stress response such as the paraventricular nucleus (PVN) (Armando *et al.* 2007), the median eminence, anterior pituitary, zona glomerulosa of the adrenal gland and the adrenal medulla (Tsutsumi & Saavedra 1991a) (Fig. 1).

Exposure to stress causes an increase in circulating and brain levels of Ang II (Xang *et al.* 1993, Yang *et al.* 1996). The Ang II stimulates receptors located outside the BBB whereas the peptide produced in the brain acts on central receptors such as those in PVN and locus coeruleus (LC). Subfornical AT₁ receptors are stimulated by circulating Ang II; this nucleus, in turn, has innervation to the PVN (Shigematsu *et al.* 1986, Tsutsumi & Saavedra 1991a). Chronic exposure to stress increases AT₁ receptor density in PVN (Castrén & Saavedra 1988), where the cell bodies synthesize corticotropin-releasing hormone (CRH) (Shigematsu *et al.* 1986, Tsutsumi & Saavedra 1991a). It has been shown that stimulation of AT₁ receptors by Ang II increases the production of CRH (Aguilera *et al.* 1995a, Jezova *et al.* 1998). The latter, once released into the circulation, increases the secretion of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) by the pituitary. In addition, elevated levels of adrenal glucocorticoids- as a result of stress-increase AT₁ receptor expression in PVN (Aguilera *et al.* 1995a) (Fig. 1). In the same way, acute stress increases the density of AT₁ receptors in the anterior pituitary. There is a local production of Ang II at the level of the anterior pituitary gland which, together with circulating Ang II, increases the secretion of ACTH (Ganong & Murakami 1987).

The PVN nucleus is important in the processing and integration of a variety of stress signals (Makara *et al.* 1984). It receives noradrenergic input from the LC and serotonergic from the dorsal raphe nucleus and there are reciprocal connections between the two regions and PVN (Cedarbaum & Aghajanian 1978, Thiboliet & Dreifuss 1981). In addition, there are reciprocal neural connections between PVN CRH neurons and LC noradrenergic neurons. Synaptic contacts were observed between CRH terminals and LC dendrites. It was also found that both adrenergic receptors regulate the secretion of ACTH and, on the other hand, it has been shown that CRH regulates the activity of central noradrenergic system. This and other evidence show that the brain noradrenergic system is the main alarm system that leads to a decrease in autonomic

neurovegetatives functions such as food intake and sleep. Much of the evidence available suggests that CRH acts as a neurotransmitter in the LC mediating the noradrenergic activation by various stress conditions (Koob 1999).

Figure 1.



Schematic representation of the HPA axis showing AT₁ receptors location and expression under non stress and stress conditions.

With respect to Ang II, the presence of AT₂ receptors has been established in LC (Tsutsumi & Saavedra 1991b). The exposure of animals to stress by social isolation (Saavedra *et al.* 2006) or cold stress (Peng & Phillips 2001) produces a decrease in the AT₂ receptor density in LC (increase in brain AT₁) while social isolation stress (for 24 hours) produces an increase in the enzyme tyrosine hydroxylase (TH) mRNA in the LC. The previous blockade of the AT₁ receptor with a specific antagonist prevents this increase (Saavedra *et al.* 2006) suggesting that these receptors are involved in the control of central sympathetic activity through transcriptional regulation of TH. Besides, this effect can be influenced by the activation of locus coeruleus AT₂ receptors. This is based on results showing dual control by AT₁ and AT₂ receptors in TH transcription and in the synthesis of catecholamines at the adrenal medulla (Jezova *et al.* 2003).

6) AT₁ ANTAGONISTS ATTENUATE CENTRAL RESPONSES INVOLVED IN BEHAVIORAL STRESS EFFECTS

Although the stress response of the HPA axis mediated by CRH is important in the regulation of physiological responses to stress, a behavioral response to stress mediated by CRH also occurs independently from the HPA axis activation. The existence of a central site of action responsible for the coordination of stress-related behaviors has been postulated (Valdez & Koob 2004). As previously described, there is a reciprocal relationship between noradrenergic and CRH brain systems: CRH stimulates the activation of the LC during stress (Berridge & Waterhouse 2003) while exposure to stress leads to increased concentrations of CRH in LC producing behavioral activation (Chappell *et al.* 1986). Intracerebral administration of a CRH antagonist prevents the increase in extracellular noradrenaline in prefrontal cortex by stress (Shimizu *et al.* 1994). It was found that pretreatment of animals with candesartan, an AT₁ antagonist that cross effectively the BBB, prevents the decrease of cerebral cortex CRH₁ receptor density produced by social isolation stress (Saavedra *et al.* 2006). Therefore, cortical release of CRH by stress may be positively regulated by cortical AT₁ receptor stimulation, similar to actions at the hypothalamic level.

The presence of AT₁ receptors has been found in piriform and entorhinal cortex but not in the neocortex (Tsutsumi & Saavedra 1991b), although the mRNA expression of AT₁ receptor was detectable by *in situ* hybridization (Lenkei *et al.* 1998). Thus, AT₁ receptor blockade may reduce the release of CRH directly and may also prevent the decrease in the CRH₁ receptor density. It is also possible that AT₁ receptor antagonism could prevent the stress-induced decrease on cortical CRH₁ receptors by decreasing TH transcription in the LC (Saavedra *et al.* 2006).

7) STRESS & DRUGS OF ABUSE

The hormonal changes, involving increased peripheral glucocorticoid levels and CRH release in different brain sites, initiate a cascade of biological responses to counteract the altered homeostatic balance of the organism in response to stress. The modification in the brain physiology induced by stress triggers the release of neuroactive hormones such as biogenic amines and adrenal steroids which activate the same neuronal circuit as the psychostimulant drugs like cocaine or amphetamine (Amph).

Many years ago, clinical studies on methadone-treated heroin addicts showed atypical stress response in both active and long-term abstinent heroin addicts, similar to the atypical stress response of the HPA axis that has been found in abstinent cocaine addicts (Dole & Nyswander 1966, Kreek 1992). Thus, it has been hypothesized that an atypical response to stressors may contribute to compulsive drug use (Kreek & Koob 1998). Moreover, it has been demonstrated in a series of studies that rats with higher levels of behavioral and neuroendocrine response to stress develop psychostimulant drug self-administration more rapidly than low responders (Piazza *et al.* 1993, Piazza & Le Moal 1998). Together with other evidence, this supports a major role for stress in individual vulnerability to self-administer drugs of abuse. In addition, corticosterone, the major glucocorticoid end-product of HPA axis activation in rodents was shown to be self-administered in rats and pharmacological manipulation of the circulating corticosterone levels altered cocaine self-administration behavior (Goeders 1998, Piazza *et al.* 1993). These results and many others suggest that the activity of the HPA axis may play a role in different phases of drug addiction.

Amph actions include HPA axis activation and central endogenous CRH actions. After acute administration of Amph, plasma levels of ACTH and corticosterone are increased in a monotonic dose-response function. Under the same conditions, reduced levels of CRH immunoreactivity were found in the median eminence, suggesting CRH release from this region (Swerdlow *et al.* 1993). Adrenalectomy, on the other hand, reduces locomotor activity elicited by acute Amph and the values can be restored and even augmented if the animal receives exogenous corticosterone (Cador *et al.* 1993b). Moreover, cross-sensitization between stress and psychostimulants, and between central CRH and Amph have been described in rodents (Ahmed *et al.* 1995, Cador *et al.* 1993a). Stress exposure induces relapse in drug abuse and promotes acquisition or reinstatement of ethanol self-administration. The evidence available supports a role for stress as a factor involved in the vulnerability to drug abuse.

8) ANGIOTENSIN II AT₁-RECEPTORS AND AMPH SENSITIZATION

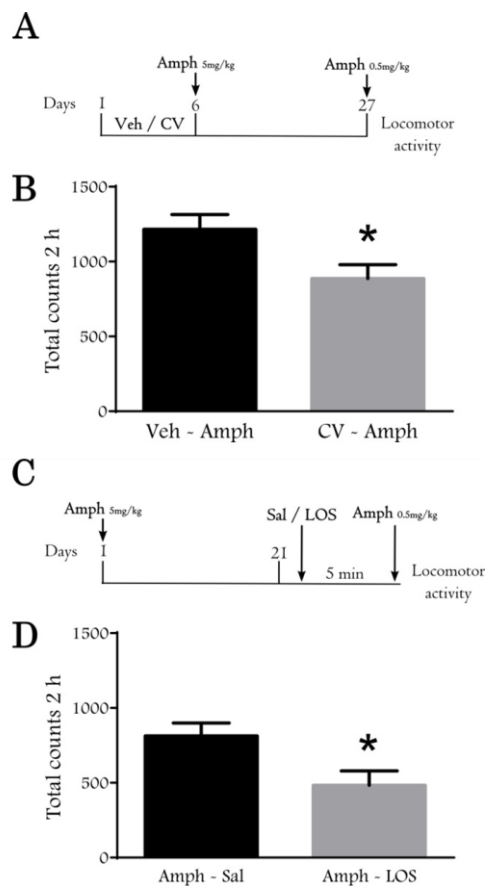
The mesolimbic dopaminergic circuitry is one of the systems strongly involved in drug abuse (Vanderschuren *et al.* 1999a). Ang II belongs to the group of peptides known to stimulate dopamine (DA) release (Brown *et al.* 1996, Tchekalarova & Georgiev 2005). Furthermore Ang II receptors are in brain areas rich in DA, such as the nucleus accumbens (Nacc) and caudate putamen (Cpu) which are heavily involved in the self-administration of drugs of abuse (White & Kalivas 1998). The mesolimbic dopaminergic system is a critical component in the reward circuitry of the central nervous system (White & Kalivas 1998).

Brain Ang II was found to regulate some responses induced by drugs of abuse such as psychostimulants, among others (Hosseini *et al.* 2007, Watanabe *et al.* 2010, Paz *et al.* 2011, Paz *et al.* 2013, Paz *et al.* 2014). The presence of Ang II AT₁ receptors has been described in pre- and postsynaptic CPU dopaminergic neurons (Brown *et al.* 1996), which are involved in the motor and behavioral responses induced by psychostimulants as well as their modulatory action on noradrenergic (Gelband *et al.* 1998), serotonergic (Nahmod *et al.* 1978), glutamatergic and gabaergic neurotransmission (Barnes *et al.* 2003, Oz *et al.* 2005). It has been described that Ang II modulates the neuronal response to glutamate via both AT₁ and AT₂ receptors possibly at postsynaptic level in the superior colliculus, locus coeruleus and dorsal lateral nucleus among other areas (Albrecht *et al.* 1997, Mooney *et al.* 1994, Xiong & Marshall 1990).

Sensitization is an extensively described phenomenon for several drugs of abuse, including psychostimulants where repeated exposure to the drug promotes long term changes in the neuronal circuits involved in reward responses. In this way, they become sensitized to a challenging event such as re-exposure to the drug, stress and even directly by DA agonists (Ahmed *et al.* 1995, Robinson & Kolb 2004, Stewart & Badiani 1993). Two stages have been identified for this process: induction and expression (Robinson & Berridge 2008). The first one is responsible for the long term changes that take place and it can be achieved by single or repeated administration of the drug. It requires DA release in Cpu and Nacc and Ventral Tegmental Area activation (Robinson & Berridge 2008, Vanderschuren *et al.* 1999a, Kalivas *et al.* 1998). Expression reveals these changes after a re-exposure to the drug and it can be measured as augmented DA release, electrical activity, neuronal activation and locomotor activity (Valjent *et al.* 2010, Vanderschuren *et al.* 1999b, Vanderschuren *et al.* 1999c).

Considering the dopaminergic neurotransmission as a common target for Amph and brain Ang II actions, the results obtained in our laboratory indicate that Ang II AT₁ receptors are involved in long-lasting behavioral sensitization associated with neurochemical adaptations induced by a single exposure to Amph. The AT₁ receptor blockade attenuated the behavioral sensitization and blunted the dopamine hyper-reactivity and neuronal activation in a two injection protocol (Paz *et al.* 2011, Paz *et al.* 2013) (Fig. 2A-B). Moreover, it did not interfere with changes in the sensitivity of dopamine postsynaptic receptors involved in the neuroadaptive changes induced by Amph (Paz *et al.* 2011). The effects of AT₁ receptor blockade became evident 3 weeks after pretreatment with a single exposure to Amph when the adaptive changes in behavioral response have been described to be more pronounced (Vanderschuren *et al.* 1999b).

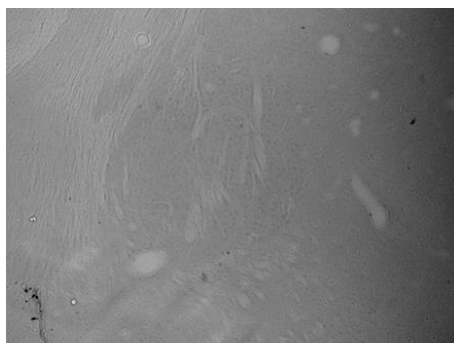
Figure 2.



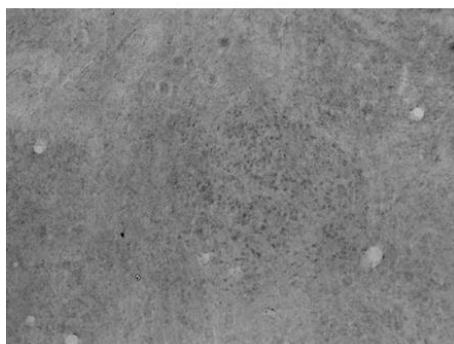
Total counts of locomotor activity in animals receiving AT₁ receptor blocker in the development (A-B) and in the expression (C-D) of locomotor sensitization to a single injection of Amph (5 mg/kg) *p<0.05.

On the other hand, there are long-term changes in brain RAS components after a single exposure to Amph. In this way, while Angiotensinogen RNAm was decreased in CPU only 21 days after Amph injection, AT1 RNAm and receptor density were augmented in CPU and NAcc 7 and 21 days after (Paz et al. 2014), the elevated AT1 receptor immunostaining was also observed in Central Amygdala (Fig. 3).

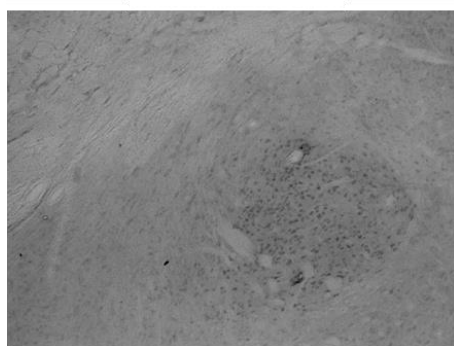
Figure 3.



Saline



Amph 7 days



Amph 21 days

Microphotographs (200X magnification) showing AT1 receptor immunostaining in central Amygdala in basal condition and 7 or 21 days after a single Amph administration (5 mg/kg).

Moreover, a key role for the AT1 receptors was found in CPU, in the expression of behavioral sensitization to Amph since the AT1 receptor blockade in CPU blunted the augmented locomotor activity observed after an Amph challenge (Paz et al. 2014) (Fig. 2C-D.)

9) CONCLUDING REMARKS

The role of brain RAS extends beyond the control of blood pressure and fluid homeostasis as evidenced by its involvement in the stress response. The studies to elucidate the physiological role of brain RAS will provide new pharmacological tools for tackling diseases of high incidence in our society such as disorders associated with stress and drug abuse.

ACKNOWLEDGMENTS:

This study was supported by grants from CONICET 11220090100852-KB1 and SECyT. The authors are grateful to Estela Salde and Lorena Mercado for their laboratory technical assistance.

REFERENCES:

- Aguilera, G., Kiss, A. and Luo, X. (1995a) Increased expression of type 1 of angiotensin II receptors in the hypothalamic paraventricular nucleus following stress and glucocorticoid administration. *J Neuroendocrinol*, 7, 775-783.
- Aguilera, G., Young, W. S., Kiss, A. and Bathia, A. (1995b) Direct regulation of hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurons by angiotensin II. *Neuroendocrinology*, 61, 437-444.
- Ahmed, S. H., Stinus, L., Le Moal, M. and Cador, M. (1995) Social deprivation enhances the vulnerability of male Wistar rats to stressor- and amphetamine-induced behavioral sensitization. *Psychopharmacology*, 117, 116-124.
- Albrecht, D., Broser, M., Kruger, H. and Bader, M. (1997) Effects of angiotensin II and IV on geniculate activity in nontransgenic and transgenic rats. *European journal of pharmacology*, 332, 53-63.
- Armando, I., Carranza, A., Nishimura, Y., Hoe, K. L., Barontini, M., Terrón, J. A. and Saavedra, J. M. (2001) Peripheral administration of an angiotensin II AT1 receptor decreases the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. *Endocrinology*, 142, 3880-3889.
- Armando, I., Volpi, S., Aguilera, G. and Saavedra, J. M. (2007) Angiotensin II AT1 receptor blockade prevents the hypothalamic corticotropin-releasing factor response to isolation stress. *Brain research*, 1142, 92-99.
- Baiardi, G., Bregonzio, C., Jezova, M., Armando, I. and Saavedra, J. M. (2004) Angiotensin II AT1 receptor blockade prolongs the lifespan and reduces stress-induced release of catecholamines, glucocorticoids and vasopressin. *Ann N Y Acad Sci*, 1018, 131-136.
- Barnes, K. L., DeWeese, D. M. and Andresen, M. C. (2003) Angiotensin potentiates excitatory sensory synaptic transmission to medial solitary tract nucleus neurons. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 284, R1340-1353.
- Berridge, C. W. and Waterhouse, B. D. (2003) The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Rev*, 42, 33-84.

- Biancardi, V. C., Son, S. J., Ahmadi, S., Filosa, J. A. and Stern, J. E. (2014) Circulating angiotensin II gains access to the hypothalamus and brain stem during hypertension via breakdown of the blood-brain barrier. *Hypertension*, 63, 572-579.
- Bottari, S. P., Raylor, V., King, I. N., Bogdal, S., Whitebread, S. and De Gasparo, M. (1991) Angiotensin II AT2 receptors do not interact with guanine nucleotide binding proteins. *European journal of pharmacology*, 207, 157-163.
- Braun-Menéndez, E., Fasciolo, J. C., Leloir, L. F. and Muñoz, J. M. (1940) The substance causing renal hypertension. *J Physiol*, 98, 283-298.
- Brown, D. C., Steward, L. J., Ge, J. and Barnes, N. M. (1996) Ability of angiotensin II to modulate striatal dopamine release via the AT1 receptor in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol*, 118, 414-420.
- Cador, M., Cole, B. J., Koob, G. F., Stinus, L. and Le Moal, M. (1993a) Central administration of corticotropin releasing factor induces long-term sensitization to D-amphetamine. *Brain research*, 606, 181-186.
- Cador, M., Dulluc, J. and Mormede, P. (1993b) Modulation of the locomotor response to amphetamine by corticosterone. *Neuroscience*, 56, 981-988.
- Castrén, E. and Saavedra, J. M. (1988) Repeated stress increase the density of angiotensin II binding sites in the rat paraventricular nucleus and subfornical organ. *Endocrinology*, 122, 370-372.
- Cedarbaum, J. M. and Aghajanian, G. K. (1978) Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by retrograde tracing technique. *J Comp Neurol*, 178, 1-14.
- Claing, A., Laporte, S. A., Caron, M. G. and Lefkowitz, R. J. (2002) Endocytosis of G protein-coupled receptors: roles of G protein-coupled receptor kinases and ss-arrestin proteins. *Prog Neurobiol*, 66, 61-79.
- Chappell, P. B., Smith, M. A., Kilts, C. D., Bissette, G., Ritchie, J. and Anderson, C. (1986) Alterations in corticotropin-releasing factor like immunoreactivity in discrete rat brain regions after acute and chronic stress. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 6, 2908-2914.
- Danser, A. H. (2003) Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol*, 35, 759-768.
- De Gasparo, M. and Siragy, H. M. (1999) The AT2 receptor: fact, fancy and fantasy. *Regulatory peptides*, 81, 11-24.
- Dole, V. P. and Nyswander, M. E. (1966) Rehabilitation of heroin addicts after blockade with methadone. *N Y State J Med*, 66, 2011-2017.
- Ferrario, C., Abdelhamed, A. I. and Moore, M. (2004) All antagonist in hypertension, heart failure, and diabetic nephropathy: focus on losartan. *Curr Med Res Opin*, 20, 279-293.
- Fogarty, D. J. and Matute, C. (2001) Angiotensin receptor-like immunoreactivity in adult brain white matter astrocytes and oligodendrocytes. *Glia*, 35, 131-146.
- Gaborik, Z. and Hunyady, L. (2004) Intracellular trafficking of hormone receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 15, 286-293.
- Ganong, W. F. and Murakami, K. (1987) The role of angiotensin II in the regulation of ACTH secretion. *Ann N Y Acad Sci*, 512, 176-186.
- Gelband, C. H., Summers, C., Lu, D. and Raizada, M. K. (1998) Angiotensin receptors and norepinephrine neuromodulation: implications of functional coupling. *Regulatory peptides*, 73, 141-147.
- Goeders, N. E. (1998) Stress, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and vulnerability to drug abuse. *NIDA Res Monogr*, 169, 83-104.
- Hosseini, M., Sharifi, M. R., Alaei, H., Shafei, M. N. and Karimooy, H. A. (2007) Effects of angiotensin II and captopril on rewarding properties of morphine. *Indian J Exp Biol*, 45, 770-777.
- Hunyady, L. and Catt, K. J. (2006) Pleiotropic AT1 receptor signaling pathways mediating physiological and pathogenic actions of Angiotensin II. *Mol Endocrinol*, 20, 953-970.
- Iwai, N. and Inagami, T. (1992) Identification of two subtypes in the rat type 1 angiotensin II receptor. *FEBS Lett*, 298, 257-260.
- Jackson, E. K. (2002) Renina y angiotensina. In: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, (J. G. Hardman and L. E. Limbird eds.), Vol. 1, pp. 819-851. McGraw-Hill Interamericana, Mexico, D.F.
- Jezova, D., Ochedalski, T., Kiss, A. and Aguilera, G. (1998) Brain angiotensin II modulates sympathoadrenal and hypothalamic pituitary adrenocortical activation during stress. *J Neuroendocrinol*, 10, 67-72.
- Jezova, M., Armando, I., Bregonzio, C., Yu, Z.-X., Quian, S., Ferrans, V. J., Imboden, H. and Saavedra, J. M. (2003) Angiotensin II AT1 and AT2 receptors contribute to maintain basal adrenomedullary norepinephrine synthesis and tyrosine hydroxylase transcription. *Endocrinology*, 144, 2092-2101.
- Kakar, S. S., Sellers, J. C., Devor, D. C., Musgrove, L. C. and Neill, J. D. (1992) Angiotensin II type-1 receptor subtype cDNAs: differential tissue expression and hormonal regulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 31, 1090-1096.
- Kalivas, P. W., Pierce, R. C., Cornish, J. and Sorg, B. A. (1998) A role for sensitization in craving and relapse in cocaine addiction. *Journal of psychopharmacology*, 12, 49-53.
- Kambayashi, Y., Bardhan, S., Takahashi, K., Tsuzuki, S., Inui, T., Hamakubo, T. and Inagami, Y. (1993) Molecular cloning of a novel angiotensin II receptor isoform involved in phosphotyrosine phosphatase inhibition. *J Biol Chem*, 268, 24543-24546.
- Konoshi, H., Kuroda, S., Inada, Y. and Fujisawa, Y. (1994) Novel subtype of human angiotensin II type 1 receptor: cDNA cloning and expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 199, 467-474.
- Koob, G. F. (1999) Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biol Psychiatry*, 46, 1167-1180.
- Kreek, M. J. (1992) Effects of opiates, opioid antagonists and cocaine on the endogenous opioid system: clinical and laboratory studies. *NIDA Res Monogr*, 119, 44-48.
- Kreek, M. J. and Koob, G. F. (1998) Drug dependence: stress and dysregulation of brain reward pathways. *Drug Alcohol Depend*, 51, 23-47.
- Lavoie, J. L. and Sigmund, C. D. (2003) Minireview: overview of the renin-angiotensin system- an endocrine and paracrine system. *Endocrinology*, 144, 2179-2183.
- Lenkei, Z., Palkovits, M., Corvol, P. and Llorens-Cortes, C. (1998) Distribution of angiotensin type 1 receptor messenger RNA expression in the adult rat brain. *Neuroscience*, 82, 827-841.
- Luttrell, L. M. and Lefkowitz, R. J. (2002) The role of B-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *J Cell Sci*, 115, 455-465.
- Makara, G. B., Antoni, F. A., Stark, E. and Kerteszi, M. (1984) Hypothalamic organization of corticotropin releasing factor (CRF) producing structures. In: *Endocrine Perspective*, (E. Muller and R. M. Macleod eds.), Vol. 3, pp. 71-120. Elsevier, Amsterdam.
- Mendelsohn, F. A. O., Quirion, R., Saavedra, J. M., Aguilera, G. and Catt, K. J. (1984) Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81, 1575-1579.
- Mooney, R. D., Zhang, Y. and Rhoades, R. W. (1994) Effects of angiotensin II on visual neurons in the superficial laminae of the hamster's superior colliculus. *Visual neuroscience*, 11, 1163-1173.
- Mukoyama, M., Kakajima, M., Horiuchi, M., Sasamura, H., Pratt, R. E. and Dzau, V. (1993) Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor

- reveals a unique class of seven transmembrane receptor. *J Biol Chem*, 268, 24539-24542.
- Nahmod, V. E., Finkelman, S., Benarroch, E. E. and Pirola, C. J. (1978) Angiotensin regulates release and synthesis of serotonin in brain. *Science*, 202, 1091-1093.
- Oz, M., Yang, K. H., O'Donovan M, J. and Renaud, L. P. (2005) Presynaptic angiotensin II AT1 receptors enhance inhibitory and excitatory synaptic neurotransmission to motoneurons and other ventral horn neurons in neonatal rat spinal cord. *Journal of neurophysiology*, 94, 1405-1412.
- Paz, M. C., Assis, M. A., Cabrera, R. J., Cancela, L. M. and Bregonzio, C. (2011) The AT angiotensin II receptor blockade attenuates the development of amphetamine-induced behavioral sensitization in a two-injection protocol. *Synapse*, 65, 505-512.
- Paz, M. C., Marchese, N. A., Cancela, L. M. and Bregonzio, C. (2013) Angiotensin II AT(1) receptors are involved in neuronal activation induced by amphetamine in a two-injection protocol. *BioMed research international*, 2013, 534817.
- Paz, M. C., Marchese, N. A., Stroppa, M. M., Gerez de Burgos, N. M., Imboden, H., Baiardi, G., Cancela, L. M. and Bregonzio, C. (2014) Involvement of the brain renin-angiotensin system (RAS) in the neuroadaptive responses induced by amphetamine in a two-injection protocol. *Behavioural brain research*, 272, 314-323.
- Peng, J. F. and Phillips, M. I. (2001) Opposite regulation of brain angiotensin type 1 and type 2 receptors in cold-induced hypertension. *Regulatory peptides*, 97, 91-102.
- Phillips, M. I. and Sumners, C. (1998) Angiotensin II in the central nervous system physiology. *Regulatory peptides*, 78, 1-11.
- Piazza, P. V., Deroche, V., Deminiere, J. M., Maccari, S., Le Moal, M. and Simon, H. (1993) Corticosterone in the range of stress-induced levels possesses reinforcing properties: implications for sensation-seeking behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 11738-11742.
- Piazza, P. V. and Le Moal, M. (1998) The role of stress in drug-self administration. *Trends Pharmacol Sci*, 19, 67-74.
- Prossnitz, E. R. (2004) Novel roles for arrestins in the post-endocytic trafficking of G protein-coupled receptors. *Life Sci*, 75, 893-899.
- Robinson, T. E. and Berridge, K. C. (2008) Review. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363, 3137-3146.
- Robinson, T. E. and Kolb, B. (2004) Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse. *Neuropharmacology*, 47 Suppl 1, 33-46.
- Saavedra, J. M. (1992) Brain and pituitary angiotensin. *Endocr Rev*, 13, 329-380.
- Saavedra, J. M. (1999) Emerging features of brain angiotensin receptors. *Regulatory peptides*, 85, 31-45.
- Saavedra, J. M., Armando, I., Bregonzio, C., Juorio, A., Macova, M., Pavel, J. and Sanchez-Lemus, E. (2006) A centrally acting, anxiolytic angiotensin II AT1 receptor antagonist prevents the isolation stress-induced decrease in cortical CRF1 receptor and benzodiazepine binding. *Neuropsychopharmacology*, 31, 1123-1134.
- Sadamura, H., Hein, L., Krieger, J. E., Pratt, R. E., Kobilka, B. K. and Dzau, V. (1992) Cloning, characterization, and expression of two angiotensin receptor (AT-1) isoforms from the mouse genome. *Biochem Biophys Res Commun*, 185, 253-259.
- Seltzer, A. M., Bregonzio, C., Armando, I., Baiardi, G. and Saavedra, J. M. (2004) Oral administration of an AT1 receptor antagonist prevents the central effects of angiotensin II in spontaneously hypertensive rats. *Brain research*, 1028, 9-18.
- Shigematsu, K., Saavedra, J. M., Plunkett, L. M. and Correa, F. M. A. (1986) Angiotensin II binding site in the anteroventral-third ventricle (AV3V) area and related structures of the rat brain. *Neuroscience letters*, 67, 37-41.
- Shimizu, N., Nakane, H., Hori, T. and Hayashi, Y. (1994) CRF receptor antagonist attenuates stress-induced noradrenaline release in the medial prefrontal cortex of rats. *Brain research*, 654, 145-148.
- Speth, R. C., Thompson, S. M. and Johns, S. J. (1995) Angiotensin II receptors: structural and functional considerations. In: *Current Concepts: Tissue renin angiotensin systems as local regulators in reproductive and endocrine organs*, (A. K. Mukhopadhyay and M. K. Raizada eds.), pp. 169-192. Plenum Press, New York.
- Stewart, J. and Badiani, A. (1993) Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioural pharmacology*, 4, 289-312.
- Swerdlow, N. R., Koob, G. F., Cadore, M., Lorang, M. and Hauger, R. L. (1993) Pituitary-adrenal axis responses to acute amphetamine in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 45, 629-637.
- Tchekalarova, J. and Georgiev, V. (2005) Angiotensin peptides modulatory system: how is it implicated in the control of seizure susceptibility? *Life Sci*, 76, 955-970.
- Thiboliet, E. and Dreifuss, J. J. (1981) Localization of neurons projecting to the hypothalamic paraventricular nucleus area of the rat : a horseradish peroxidase study. *Neuroscience*, 6, 1315-1328.
- Thomas, W. G. and Mendelsohn, F. A. O. (2003) Molecules in focus: angiotensin receptors form and function and distribution. *Int J Biochem Cell Biol*, 35, 774-779.
- Thomas, W. G. and Quian, H. (2003) Arresting angiotensin type 1 receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 14, 130-136.
- Tsutsumi, K. and Saavedra, J. M. (1991a) Angiotensin II receptor subtypes in median eminence and basal forebrain areas involved in the regulation of pituitary function. *Endocrinology*, 129, 3001-3008.
- Tsutsumi, K. and Saavedra, J. M. (1991b) Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT1 and AT2) in rat brain. *Am J Physiol*, 261, R209-216.
- Valdez, G. R. and Koob, G. F. (2004) Allostasis and dysregulation of corticotropin-releasing factor and neuropeptide Y systems: implications for the development of alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav*, 79, 671-689.
- Valjent, E., Bertran-Gonzalez, J., Aubier, B., Greengard, P., Herve, D. and Girault, J. A. (2010) Mechanisms of locomotor sensitization to drugs of abuse in a two-injection protocol. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35, 401-415.
- Vanderschuren, L. J., Schmidt, E. D., De Vries, T. J., Van Moorsel, C. A., Tilders, F. J. and Schoffelmeer, A. N. (1999a) A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19, 9579-9586.
- Vanderschuren, L. J., Schmidt, E. D., De Vries, T. J., Van Moorsel, C. A., Tilders, F. J. and Schoffelmeer, A. N. (1999b) A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19, 9579-9586.
- Vanderschuren, L. J., Schoffelmeer, A. N., Mulder, A. H. and De Vries, T. J. (1999c) Dopaminergic mechanisms mediating the long-term expression of locomotor sensitization following pre-exposure to morphine or amphetamine. *Psychopharmacology*, 143, 244-253.
- Watanabe, M. A., Kucenas, S., Bowman, T. A., Ruhlman, M. and Knuepfer, M. M. (2010) Angiotensin II and CRF receptors in the central nucleus of

the amygdala mediate hemodynamic response variability to cocaine in conscious rats. Brain research, 1309, 53-65.

White, F. and Kalivas, P. W. (1998) Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. Drug and Alcohol dependence, 51, 141-153.

Xang, G., Xi, Z. X., Wan, Y., Wang, H. and Bi, G. (1993) Changes in circulating and tissue angiotensin II during acute and chronic stress. Biol Signals, 2, 166-172.

Xiong, H. G. and Marshall, K. C. (1990) Angiotensin II modulation of glutamate excitation of locus coeruleus neurons. Neuroscience letters, 118, 261-264.

Yang, G., Wan, Y. and Zhu, Y. (1996) Angiotensin II an important stress hormone. Biol Signals, 5, 1-8.

RESUMEN

Angiotensina II es conocida como una hormona periférica involucrada en el control de la presión arterial y la homeostasis de fluidos. El estudio y la caracterización de angiotensina II y sus receptores en el cerebro han abierto nuevos campos de investigación para el abordaje de sus nuevos roles fisiológicos. En este sentido, angiotensina II cerebral ha sido caracterizado como neuromodulador en múltiples circuitos cerebrales de neurotransmisión. Es así, como se ha descrito la participación de angiotensina II cerebral y periférica (hormonal) en la respuesta de estrés. Las evidencias muestran que es necesaria la activación de los receptores AT1 de angiotensina II para la liberación de hormonas inducida por estrés, incluyendo las hormonas liberadora de corticotrofina, adenocorticotrófica, corticosterona y vasopresina, así como también, para la estimulación del sistema adrenérgico central. En este sentido, se ha encontrado que el bloqueo de los receptores AT1 periféricos y centrales previenen la respuesta hormonal y simpato-adrenal al estrés. Además, los receptores AT1 están involucrados en las respuestas de recompensa a reforzadores naturales, así como también en la regulación de algunas respuestas a drogas de abuso como cocaína, anfetamina y alcohol, entre otras. La exposición a anfetamina induce neuroadaptaciones que modifican las respuestas conductuales frente a nuevos desafíos farmacológicos y ambientales.

Es importante considerar que el estudio del rol fisiológico de angiotensina II cerebral aporta información que contribuye al abordaje farmacológico en el tratamiento de desórdenes inducidos por estrés y drogas psicoestimulantes.

Palabras Claves: Angiotensina II, receptores AT1, Estrés, anfetamina, sensibilización.

Rev. Farmacol. Chile (2014) 7(3) 17-25

Recibido 02-09-2014; Revisado 15-09-2014; Aceptado 16-09-2014

ARTÍCULO DE REVISIÓN

EXPOSICIÓN A PLOMO Y ADICCIÓN A DROGAS
(Lead exposure and drug addiction)

Miriam B. Virgolini y Liliana M. Cancela

IFEC, CONICET. Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

RESUMEN

La sostenida reducción a lo largo de los años en los niveles de referencia de plomo (Pb) en sangre considerados "seguros" para los organismos en desarrollo revela la creciente preocupación por los efectos subclínicos resultantes de la exposición a este neurotóxico persistente en el ambiente. La presente revisión compendia evidencias comportamentales en modelos animales expuestos a dosis bajas de Pb en diferentes etapas de la vida, principalmente durante el desarrollo temprano, focalizándose en la vulnerabilidad a la adicción a psicoestimulantes y etanol. Se discuten asimismo las consecuencias de la coexistencia de endofactores como el estrés en la modulación de estas respuestas. Los conceptos de reforzamiento positivo y negativo como determinantes de las manifestaciones conductuales emergen de la presentación de los datos, particularmente en lo referido a la vulnerabilidad al consumo de etanol. Las evidencias demuestran que la impronta del contacto con el metal durante el desarrollo, o su presencia concomitante con otros agentes químicos en etapas más tardías de la vida es condicionante para la reactividad de estos organismos frente a situaciones de conflicto como la iniciación a conductas adictivas, particularmente a drogas de abuso. Se torna imperativo el abordaje del estudio profundo de las bases neurobiológicas para identificar mecanismos comunes a estos neurotóxicos que repercutan en la modulación de estas conductas.

Palabras Claves: Plomo, etanol, anfetamina, cocaína, estrés, neurotóxicos, contaminantes ambientales, adicción a drogas.

Rev. Farmacol. Chile (2014) 7(3) 26-38

Recibido 11-09-2014; Revisado 16-09-2014; Aceptado 17-09-2014

1) INTRODUCCIÓN

Las recientes recomendaciones de los Centros de Control de Enfermedades de EE.UU. (US CDC) sobre la reducción de los niveles de plomo (Pb) en sangre considerados "de referencia" para la población pediátrica de EE.UU. han renovado la preocupación de la comunidad científica internacional sobre los efectos de bajas concentraciones de este metal en etapas tempranas de la vida, al punto de considerar que no existiría un nivel seguro de Pb en sangre cuando la exposición transcurre durante el desarrollo ("Forum CDC Updates Guidelines for Children's Lead Exposure", 2012). Al respecto, en numerosas evidencias se ha reportado que, en organismos en formación, la presencia de Pb aún en cantidades traza conforma una "huella" que perdura a lo largo del tiempo, y que puede evidenciarse ante desafíos fisiológicos, patológicos o ambientales como embarazo, enfermedades, estrés, adicción a drogas, o ante determinadas etapas de la vida que suponen conductas o procesos biológicos particulares como la niñez, la adolescencia o la ancianidad. Estos eventos potenciarían la neurotoxicidad del Pb y serían determinantes para la manifestación de alteraciones

conductuales en los organismos expuestos tempranamente a este metal. Sin embargo, estos efectos difieren de acuerdo al período del desarrollo en el cual ha transcurrido la exposición. Así, los procesos que ocurren durante el período fetal y postnatal temprano son particularmente susceptibles a noxas (incluyendo al Pb) que afectan el desarrollo (Tiffany-Castiglioni y cols, 1989), y que se constituyen como agentes y/o eventos capaces de modificar las interacciones entre neuronas y circuitos neurales que podrían evidenciarse más tarde como desórdenes neuroconductuales en la infancia, conductas adictivas en la adolescencia o aún enfermedades neurodegenerativas en etapas más tardías de la vida. Por el contrario, cuando la exposición al metal transcurre en la vida adulta, las diferencias que emergen en la funcionalidad del sistema nervioso central (SNC) responden a la presencia y consecuentemente acción simultánea entre estos eventos y/o xenobióticos y el Pb sobre los sistemas de neurotransmisión y de señalización intracelular.

Correspondencia a: Dra. Miriam B. Virgolini, IFEC-CONICET. Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Dirección: Haya de la Torre y Medina Allende. Ciudad Universitaria (5016) Córdoba, Argentina. Teléfono: 54-351-5353852 Anexo 3162, Fax: 54-351-4334420, Correo electrónico: mvirgoli@fcq.unc.edu.ar

La presente revisión se focaliza en el impacto de la exposición a Pb durante diferentes etapas de la vida sobre la vulnerabilidad a la adicción a drogas, incluyendo etanol. Se presentarán reportes clínicos y se discutirán datos experimentales obtenidos en animales de laboratorio que han sido expuestos a Pb, tanto durante el desarrollo como en la edad adulta, con un enfoque particular en los organismos en formación. Con la intención de brindar sustento científico a estas interacciones, se proveerán evidencias conductuales que, se sabe, están asociadas a aspectos neurobiológicos y ambientales a los que están sujetos estos individuos.

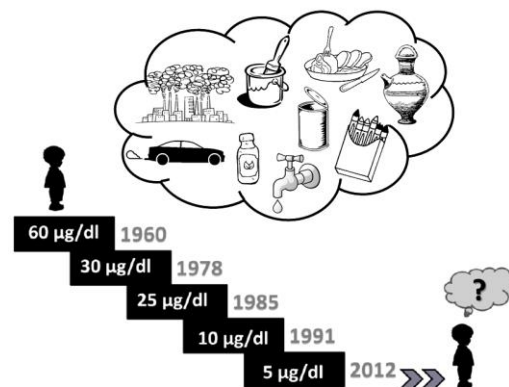
2) PLOMO

2.1) Plomo como neurotóxico del desarrollo:

Considerado un metal no esencial, al Pb no se le conoce necesidad biológica alguna. Su presencia en el organismo responde a la exposición proveniente de las numerosas fuentes antropogénicas que han aumentado la dispersión ambiental a partir de su composición mineral natural. El Pb se ha acumulado particularmente en centros urbanos o en zonas fabriles por su deposición a partir de las emisiones al aire a consecuencia de su uso en el pasado en naftas y de otras aplicaciones industriales. Además, la presencia en el interior de las viviendas responde a su uso en pinturas, y antiguas cañerías de Pb, mientras que la contaminación de alimentos es una conjunción de todos sus usos pasados y presentes. Si bien, muchas de estas aplicaciones industriales han sido prohibidas o restringidas, y a pesar de que particularmente la disminución en sus emisiones a partir de combustibles trajo aparejada una reducción paralela en los niveles de Pb en sangre en niños (Bellinger y Bellinger, 2006), al tratarse de un metal persistente, se ha acumulado en el ambiente y en los organismos vivos en los cuales ejerce su toxicidad. Puesto que actualmente los episodios de intoxicación aguda son poco frecuentes, sus efectos tóxicos más conocidos y estudiados están relacionados con la exposición crónica a bajos niveles de Pb, lo que trae como consecuencia alteraciones sutiles, particularmente en el cerebro de organismos en formación, por lo que se lo conoce como un neurotóxico del desarrollo y a sus efectos se los encuadra en el área de la neurotoxicología conductual (Cory-Slechta, 1994). Así, los efectos de este metal sobre el SNC constituyen los más importantes para la salud humana: por una parte se presenta asociado a neuropatías periféricas en adultos con manifestaciones físicas patognomónicas que generalmente están relacionadas con intoxicaciones profesionales, en tanto que las encefalopatías producto de la exposición a altos niveles de este metal en niños son raras y van acompañadas de convulsiones, edema cerebral y muerte. Sin embargo, las principales manifestaciones actuales de la exposición a niveles de Pb ambientalmente relevantes son las alteraciones neuroconductuales que se presentan en

niños. A este respecto, se han descrito trastornos en el comportamiento evidenciados como hiperactividad, falta de atención, impulsividad y disminución del coeficiente intelectual. Estos efectos, en ocasiones subclínicos, han determinado que los US CDC aconsejen una reducción progresiva a lo largo de los años en los niveles de Pb en sangre considerados "de referencia" para niños pequeños (Fig. 1, modificada de Mattalloni y cols, 2014). Indudablemente, la vulnerabilidad a los efectos tóxicos de este metal en los organismos en desarrollo es mayor que la de los adultos por diferencias toxicocinéticas relacionadas al Pb (mayor absorción, menor excreción, menor proporción de depósito en hueso) sumado a la inmadurez de la barrera hematoencefálica. La mayor exposición responde asimismo a conductas propias de los niños pequeños como la de jugar en el suelo y llevarse las manos y todo tipo de objetos a la boca. Además, se sabe que este metal cruza la barrera placentaria, es excretado por la leche materna y puede ser movilizado de su depósito óseo debido a los cambios hormonales que ocurren durante el embarazo y la lactancia (Patrick, 2006). Así, cuando la exposición transcurre durante el desarrollo, el Pb imprimiría una "huella" biológica en los sistemas de neurotransmisión, condicionando una serie de cambios en la funcionalidad del SNC que modifican las respuestas futuras a determinados eventos o agentes químicos.

Figura 1.



NUBE: Fuentes de exposición a Pb. ESCALERA: Descenso a través de los años de los niveles "de referencia" de Pb en sangre en niños establecidos por los Centros de Control de Enfermedades de EE.UU. (US CDC). (Modificada de Mattalloni y cols, 2014).

Numerosos estudios clínicos y epidemiológicos han evaluado el impacto del Pb sobre el comportamiento, examinando la relación entre la exposición al metal y medidas de las capacidades intelectuales en niños. Como complemento, los estudios experimentales se valen de

modelos animales para evaluar los procesos biológicos que son afectados por la exposición a este metal. A pesar de sus limitaciones, la administración de Pb en forma oral a la madre gestante y/o lactante es el modelo animal más frecuentemente usado para evaluar las consecuencias resultantes de la exposición crónica a bajos niveles de Pb durante el desarrollo. Así, en los modelos experimentales que se inician con exposiciones in utero y que finalizan con el destete posterior a la lactancia, se abarca la mayor parte del desarrollo neuronal, desde los procesos subyacentes de neuro y sinaptogénesis hasta la estructuración sináptica final. Por otra parte, los estudios en animales adultos en general están orientados a evaluar exposiciones crónicas a niveles del metal relevantes desde el punto de vista ocupacional (niveles que son sustancialmente mayores a los ambientales) en períodos de la vida en los que la madurez del organismo ha sido alcanzada. De esta forma, las fases del desarrollo durante las cuales transcurre la exposición a Pb y los niveles reales de exposición al metal son variables críticas a considerar en el estudio de los cambios inducidos por este metal en los sistemas de neurotransmisión y en las conductas reguladas por estos sistemas.

2.2) Estrés y exposición a Pb:

Un tema emergente en salud infantil está relacionado con las interacciones entre el estrés y la contaminación ambiental, con evidencias crecientes que afirman que el estrés podría ser un factor que incremente la vulnerabilidad de organismos en desarrollo frente a agentes químicos, incluyendo al Pb (Cooney, 2011; Wright y cols, 2007). Al respecto, la corticosterona en la rata es la hormona efectora del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) que se activa como respuesta a situaciones de estrés. Interesantemente, y en relación a estas evidencias, tanto nosotros como otros autores hemos reportado que la exposición temprana (Cory-Slechta y cols, 2004; Virgolini, 1999; Virgolini y cols, 2004; Yu y cols, 1996) o adulta a Pb (Haider y cols, 2013) eleva los niveles basales de corticosterona y desencadena una mayor reactividad a situaciones estresantes (Figs. 2A y 2B, paneles izquierdo y derecho). Más aún, se han descrito cambios permanentes en estos animales que involucran altos niveles de corticosterona (revisado en Cory-Slechta y cols, 2008), disfunciones del HPA (Rossi-George y cols, 2009), cambios en la densidad de los receptores a glucocorticoides (Rossi-George y cols, 2011), modificaciones en una escala operante de intervalo fijo (IF), con exposición a Pb interrumpida en el destete (Virgolini y cols, 2006) o continua en la edad adulta (Rossi-George y cols, 2011), en ambos casos potenciada por el estrés (Virgolini y cols, 2008a, 2008b). Cabe destacar que respuestas operantes de IF han demostrado ser sensibles a la exposición a Pb (Cory-Slechta y cols, 1994; Cory-Slechta, 1990) y son consideradas buenos predictores de la impulsividad, una de las manifestaciones clínicas de trastorno por déficit de

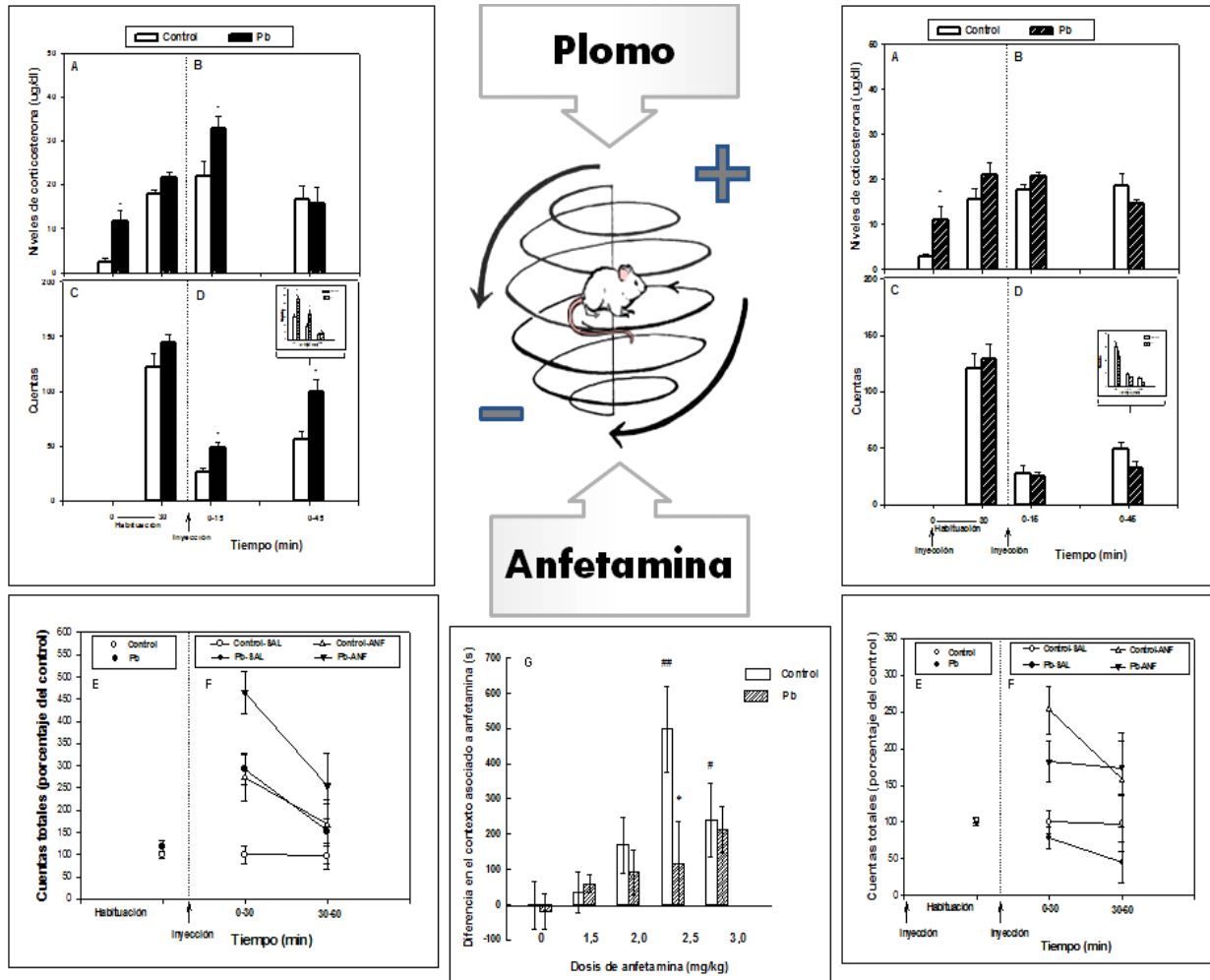
atención con hiperactividad (TDAH) (Darcheville y cols, 1993, 1992), y un factor predisponente al abuso de sustancias (Dalley y cols, 2007), ambos síndromes categorizados como desórdenes impulsivo-compulsivos (Fernando y Robbins, 2011). Del mismo modo, la búsqueda de la novedad es considerada otro predictor del abuso de drogas (Piazza y cols, 1989) con buena correlación con reportes en humanos (Ersche y cols, 2010). En resumen, las evidencias presentadas hasta el momento indicarían que factores ambientales como el estrés pueden incrementar la vulnerabilidad a la adicción en animales expuestos a Pb y viceversa, la exposición a Pb, postulamos, podría actuar como un estresor facilitando el desarrollo de adicción a drogas (Haider y cols, 2013). Además, evidencias clínicas señalan que si bien las concentraciones basales de cortisol (hormona del estrés en humanos) se asocian en forma negativa con el Pb en adultos (Fortin y cols, 2012), si la exposición ocurre en la vida temprana, la correlación entre los niveles de Pb y la respuesta a cortisol frente a un estresor es positiva (Gump y cols, 2008), revelando los efectos en la programación fetal de este metal. Estos reportes adquieren relevancia clínica y epidemiológica en el contexto de la población infantil que puede estar expuesta simultáneamente a Pb y estrés: niños que pertenecen a una minoría de bajos recursos que viven en vecindades en las que predominan las situaciones estresantes, violencia, adicción a drogas y alcohol y pobre atención médica. Así, varios factores relacionados con la pobreza convergen para incrementar el riesgo de la exposición a Pb para estos niños (Lee y cols, 2005). Asimismo, dietas bajas en Ca o malnutrición son factores concomitantes coexistiendo con las condiciones de pobreza que facilitan la absorción de Pb y potencian la anemia inducida por este metal (DiSalvo y cols, 2009; Gallicchio y cols, 2002). Al respecto, ha sido demostrado que las dificultades de aprendizaje en roedores expuestos a bajos niveles de Pb durante el desarrollo pueden ser mitigadas por enriquecimiento ambiental, aún cuando el enriquecimiento ocurra después de la exposición (Guilarte y cols, 2003). Por consiguiente, Schneider y cols, (2001), basado en la reversión de los efectos neuroconductuales y neuroquímicos del Pb por el enriquecimiento ambiental durante la juventud de las ratas concluyó que: “los mismos factores ambientales y socioeconómicos que aumentan la posibilidad de que un niño esté expuesto al Pb pueden también potenciar los efectos de este metal en el cerebro”.

3) ADICCIÓN

3.1) Concepto de reforzamiento:

Koob (2003) definió a la adicción a drogas como “un síndrome crónico recurrente que evoluciona desde un desorden con control de los impulsos dominado por el reforzamiento positivo a un desorden compulsivo caracterizado por reforzamiento negativo”.

Figura 2.



Izquierda: Niveles de corticosterona (A y B) y actividad locomotora (C y D) obtenidos en condiciones basales o en respuesta al ambiente nuevo o la inyección de salina (SAL). Panel superior, (A): niveles de corticosterona basales e inducidos por el ambiente nuevo medidos antes y después del período de habituación de 30 min, respectivamente. (B): niveles de corticosterona medidos 15 ó 45 min después de la administración de la inyección de SAL. * $p < 0,05$ comparado con el grupo control. Panel medio, (C): actividad locomotora medida durante el período de 30 min de habituación a los actógrafos. (D): actividad locomotora registrada a los 15 ó 45 min luego de la administración de la inyección de SAL en ratas habituadas al ambiente de los actógrafos. Inserto: actividad locomotora medida durante el período de 0 a 45 min graficada en tres bloques de 15 min cada uno. * $p < 0,05$ comparado con el grupo control. En todos los casos los valores representan a las medias + el error estándar. Panel inferior, (E): actividad locomotora durante el período de habituación y (F) en respuesta a SAL o anfetamina (ANF; 0,5 mg/kg i.p.). Los valores están expresados como porcentaje del control inyectado con SAL + el error estándar. **Derecha:** Niveles de corticosterona (A y B) y actividad locomotora (C y D) obtenidas en condiciones basales o en respuesta a la asociación del ambiente nuevo y la inyección de SAL o a la inyección de SAL sola. Panel superior, (A): niveles de corticosterona basales e inducidos por la asociación del ambiente nuevo y la inyección de SAL medidos antes y después de los 30 min del período de habituación, respectivamente. (B) niveles de corticosterona medidos 15 ó 45 min después de la administración de una segunda inyección de SAL. * $p < 0,02$ comparado con el grupo control. Panel medio, (C): actividad locomotora medida durante el período de 30 min de habituación a los actógrafos en ratas que han recibido una inyección de SAL inmediatamente antes de ser colocadas en los actógrafos. (D): actividad locomotora obtenida 15 ó 45 min después de la administración de una segunda inyección de SAL en ratas habituadas al ambiente de los actógrafos. Inserto: actividad locomotora medida durante el período de 0 a 45 min graficada en tres bloques de 15 min cada uno. En todos los casos los valores representan a las medias + el error estándar. Panel inferior, (E): actividad locomotora en respuesta al ambiente nuevo asociado con la inyección de SAL durante el período de habituación y (F) en respuesta a una segunda inyección de SAL o ANF (0,5 mg/kg i.p.). Los valores están expresados como porcentaje del control inyectado con SAL + el error estándar. **Centro, arriba:** Espiral que representa la transición desde las primeras fases de la adicción con predominio del reforzamiento positivo hacia estados más tardíos con preeminencia de reforzamiento negativo. Las flechas representan los efectos que tanto plomo como anfetamina ejercerían en el proceso de adicción. **Centro, abajo:** (G): Preferencia condicionada al contexto asociado a la administración de 1,5; 2,0; 2,5 ó 3,0 mg/kg de ANF en animales sometidos a dos sesiones consecutivas y alternadas de SAL y ANF separadas entre sí por 6 hs. * $p < 0,05$ con respecto al grupo control a la misma dosis. **Tomada de:** Virgolini y cols, 2004 (A-F, ambos paneles) y Virgolini, 1999 (G).

El reforzamiento es un proceso en el cual una respuesta o conducta es fortalecida sobre las bases de experiencias previas. Así, el reforzamiento positivo se define como el proceso por el cual la presentación de un estímulo incrementa la probabilidad de la ocurrencia de una respuesta y generalmente está asociado a las primeras fases del proceso de adicción. El reforzamiento negativo, por otra parte es “el proceso por el cual la remoción de un estímulo aversivo (o un estado motivacional negativo tal como la abstinencia a drogas) incrementa la probabilidad de ocurrencia de esa respuesta” y constituye un componente crítico en la transición a la dependencia como una consecuencia de la necesidad del individuo para impedir los síntomas de la abstinencia (Gilpin y Koob, 2008). Así, la conducta de consumo de drogas progresa de una condición temprana de reforzamiento positivo evidenciada por los efectos euforizantes y estimulantes de la droga (deseo compulsivo por el placer) a un estado tardío de reforzamiento negativo evidenciado como disforia y ansiedad (deseo compulsivo por el alivio) producto de la remoción de la droga (Heilig y Koob, 2007). En resumen, las dos fuentes principales del reforzamiento, positivo y negativo, juegan un rol clave en los procesos alostáticos que llevan al abuso de drogas, definiéndose a la homeostasis como la adaptación del organismo a situaciones adversas (McEwen, 1993). Ambos aspectos serán abordados en esta revisión, particularmente en lo que se relaciona a la exposición a Pb como factor determinante en la vulnerabilidad a la adicción a drogas y particularmente a etanol.

3.2) Circuito de la motivación:

El sistema mesocorticolímbico está conformado por los cuerpos neuronales situados en el área tegmento-ventral (ATV) con axones que proyectan predominantemente al núcleo accumbens (NAC), localizado en la región cerebral denominada estriado ventral y la corteza prefrontal, liberando el neurotransmisor dopamina (DA) en la terminal sináptica. Durante las primeras fases de la adicción el predominio de las propiedades reforzantes positivas de las drogas está mediado por la estimulación de las neuronas dopaminérgicas. Así, el uso de alcohol, psicoestimulantes y opioides favorecen la acumulación de DA en el NAC predominantemente, otorgándole saliencia a su señalización (Koob y Bloom, 1988; Wise y Bozarth, 1987). Numerosas evidencias apoyan la hipótesis que los psicoestimulantes (anfetamina, cocaína, nicotina) activan el sistema dopaminérgico mesolímbico, proceso clave para sus efectos reforzantes. Sin embargo, los opioides y el alcohol actúan también mediante mecanismos independientes de DA (sistemas opioidérgico y gabaérgico). Por otra parte, una región implicada en los efectos del reforzamiento negativo tanto de las drogas como del estrés es la amígdala, que es considerada parte del sistema límbico y que proyecta al hipotálamo y al cerebro medio. La amígdala extendida consiste en varios

núcleos que influyen en el paso al estado de ansiedad y reforzamiento negativo: la amígdala basolateral, la amígdala central y los núcleos corticales. Además, en este proceso tanto el eje HPA como el sistema de estrés cerebral extrahipotalámico mediado por el factor liberador de corticotrofina (CRF) están desregulados (Koob, 2013). Así, los efectos deletéreos de la exposición a Pb sobre estos neurotransmisores (que no son objeto de esta revisión) y su superposición con el circuito de la adicción constituyen las bases neurobiológicas de las manifestaciones conductuales y moleculares que describiremos a continuación en lo que se refiere a la adicción a drogas en general y a psicoestimulantes y etanol en particular.

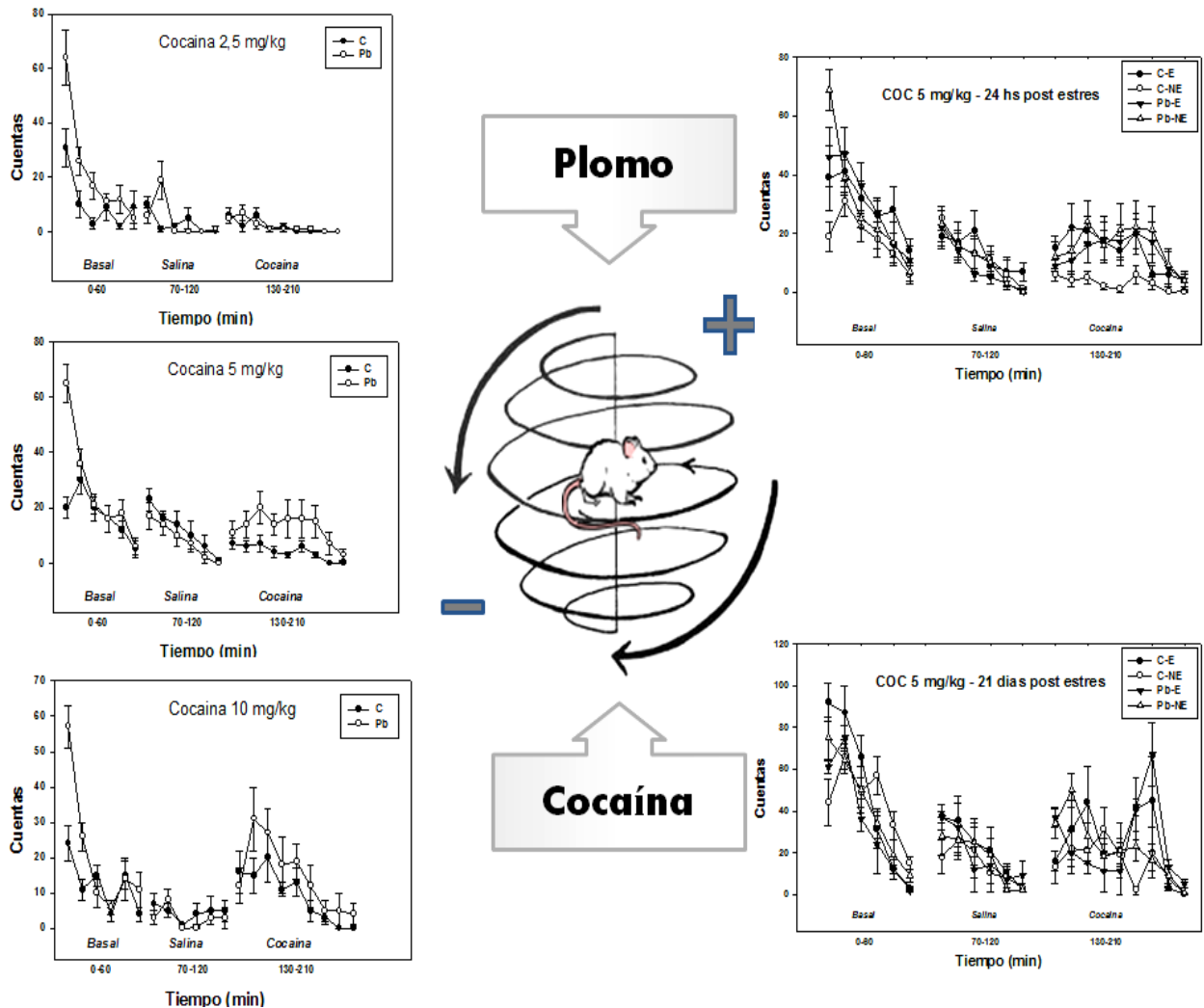
4) PLOMO Y ADICCIÓN A DROGAS

4.1) Psicoestimulantes:

En estudios pioneros en animales se relacionó la hiperactividad con la exposición a Pb, independientemente de la fase del desarrollo en la cual se produjo la exposición (Sauerhoff y Michaelson, 1973; Silbergeld y Goldberg, 1974). Posteriormente se reportó hiperactividad basal en animales infantiles o periaolescentes expuestos a bajas dosis de Pb, efectos que desaparecieron en la edad adulta (Moreira y cols, 2001; Virgolini y cols, 2004). Por otra parte, se ha demostrado que la presentación de un ambiente nuevo representa un estrés para el animal e induce un aumento de la actividad motora (Kelley y Lang, 1989). A este respecto, Barrett y Livesey, (1985) y Virgolini y cols, (2004) describieron que la exposición postnatal a dosis bajas de Pb incrementa la actividad locomotora de estos animales a situaciones estresantes (ruido, ambiente nuevo, pinchazo). Estos efectos estarían asociados a los elevados niveles basales de corticosterona y a la mayor reactividad a situaciones estresantes que fueron descritos en animales expuestos a Pb durante el desarrollo (Cory-Slechta y cols, 2004; Virgolini, 1999; Virgolini y cols, 2004; Yu y cols, 1996).

Los primeros reportes de efectos de la exposición perinatal a altas dosis de Pb sobre la respuesta locomotora a anfetamina mostraron características compatibles con un TDAH descrito en niños y evidenciado con una respuesta paradójica a anfetaminas, metilfenidato y fenobarbital (Rafales y cols, 1981; Silbergeld y Goldberg, 1974). Resultados similares fueron reportados recientemente en niños en los que se demostró que la exposición a niveles ambientales de Pb constituye un factor de riesgo para TDAH (Braun y cols, 2006). Cuando se evaluaron modelos de exposición a dosis bajas de Pb (Wince y cols, 1980) se reportó una incrementada actividad locomotora espontánea acompañada de una atenuada respuesta locomotora a dosis entre 0,5 y 2,0 mg/kg de anfetamina en crías periaolescentes expuestas a Pb durante el desarrollo.

Figura 3.



Izquierda: Actividad locomotora registrada en los actógrafos en bloques de 10 min durante 210 min en respuesta a 2,5 (A); 5,0 (B) ó 10,0 (C) mg/kg de cocaína i.p. El protocolo consistió en registrar la actividad locomotora basal durante 60 min, finalizados los cuales todos los animales fueron inyectados con salina y su locomoción registrada por otros 60 min. Finalmente, el efecto estimulante locomotor de cocaína fue evaluado por 90 min adicionales. (A, B y C): * $p < 0,05$ comparado con el grupo control a igual tiempo. (B): * $p < 0,05$ comparado con el grupo control a todos los tiempos. **Derecha:** Actividad locomotora registrada en los actógrafos en bloques de 10 min durante 210 min en respuesta a 5,0 mg/kg de cocaína i.p. registrada 24 hs (D) ó 21 días (E) después de la última sesión de estrés crónico por inmovilización (7 sesiones diarias de 2 hs). El protocolo usado para el registro de la locomoción fue similar al descrito arriba. C-NE= control no-estrés; C-E= control estrés; Pb-NE= plomo no-estrés y Pb-E= plomo estrés. * $p < 0,05$ comparados con el grupo C-NE a todos los tiempos. **Centro:** Espiral que representa la transición desde las primeras fases de la adicción con predominio del reforzamiento positivo hacia estados más tardíos con preeminencia de reforzamiento negativo. Las flechas representan los efectos que tanto plomo como cocaína ejercerían en el proceso de adicción. **Datos no publicados previamente.**

Es conocido que tanto los psicoestimulantes como el estrés del ambiente nuevo activan el eje HPA incrementando los niveles de corticosterona, que a su vez ejerce un rol modulador de la respuesta locomotora de estas drogas. Además, los efectos de las drogas de abuso dependen no sólo de sus propiedades farmacológicas sino también del contexto en el que se produce su administración (Badiani y cols, 1995). De esta manera, resultados reportados por nosotros demostraron que la exposición a Pb durante el desarrollo indujo un aumento en la respuesta locomotora a anfetamina que estuvo influenciada por la hiperlocomoción provocada por el estrés de la inyección, respuesta que fue observada selectivamente en el grupo expuesto a Pb y acompañada de elevados niveles basales de corticosterona y una incrementada secreción de esta hormona en respuesta al estrés de la inyección (Figs. 2A-F, panel izquierdo). La habituación al estrés previo a la prueba restableció tanto la secreción de corticosterona como la respuesta locomotora a la inyección a niveles comparables a los controles, no evidenciándose cambios entre ambos grupos en la respuesta locomotora a anfetamina en estas nuevas condiciones experimentales (Figs. 2A-F, panel derecho). Adicionalmente demostramos que estas alteraciones conductuales y hormonales son reversibles puesto que no se manifestaron en animales adultos expuestos perinatalmente a Pb (Virgolini y cols, 2004). Con respecto a otras respuestas a anfetamina, se ha descrito que su umbral de discriminación fue mayor en animales expuestos a Pb en la adultez en relación a sus controles cuando fueron evaluados en una prueba de aprendizaje de discriminación de drogas (Rosen y cols, 1986; Zenick y Goldsmith, 1981). Más aún, la exposición a dosis bajas de Pb durante el desarrollo atenuó las propiedades reforzantes de 2,5 mg/kg de anfetamina cuando estos animales fueron expuestos a un contexto previamente asociado a la droga en un paradigma de condicionamiento apareado a un sitio (Virgolini, 1999; Fig. 2G). Puede concluirse entonces que los animales expuestos a Pb en cualquier etapa de la vida muestran en general respuestas atenuadas a los efectos estimulantes y reforzantes de anfetamina.

En relación a cocaína, estudios realizados por Nation y cols, (1996) demostraron que si bien la sensibilización conductual (aumento en la respuesta por dosis repetidas de la droga) y la autoadministración de esta droga se manifestó tanto en animales controles como expuestos a Pb en la edad adulta, estos últimos mostraron un retardo en el desarrollo de estas conductas evidenciada como una pendiente menos pronunciada. Por otra parte, Grover y cols, (1993) han demostrado una atenuación en la hiperactividad inducida por 10 mg/kg de cocaína en animales expuestos a Pb en la edad adulta. Los efectos de la exposición al metal durante el desarrollo son más complejos y en general se ha observado una atenuación en la preferencia condicionada a un contexto previamente

asociado a cocaína (Miller y cols, 2000a), atenuada respuesta locomotora a una inyección aguda de cocaína (aunque asociada a incrementada sensibilización ante la administración repetida a la droga) (Nation y cols, 2000), supersensibilidad a la capacidad de reinstalación de cocaína (Nation y cols, 2003), e incrementada autoadministración de cocaína (Rocha y cols, 2005), con un corrimiento a la izquierda en la curva dosis-respuesta en una prueba de autoadministración de la droga (Nation y cols, 2004). Por otra parte, en experimentos en los que evaluamos curvas dosis-respuesta a los efectos estimulantes locomotores demostramos que 5 mg/kg de cocaína incrementaron significativamente la actividad locomotora de animales periaolescentes expuestos a dosis bajas de Pb durante el desarrollo (Fig. 3B). Interesantemente, a 10 mg/kg esta hiperlocomoción se manifestó tanto en los animales controles como en los expuestos a Pb, mientras que a 2,5 mg/kg esta respuesta no fue evidente en ninguno de los dos grupos (Figs. 3C y 3A, respectivamente) (resultados no publicados). Cabe destacar que estos efectos no estuvieron influenciados por la hiperactividad basal ni por la respuesta a la inyección de vehículo (salina), puesto que en el protocolo usado en este estudio los animales fueron habituados al ambiente de los actógrafos por 60 min, recibieron una inyección de salina y su actividad locomotora fue registrada por otros 60 min previo a la administración de cocaína de acuerdo al procedimiento usado por Chefer y cols, (1999). Interesantemente, 24 hs después de la última sesión de estrés crónico por inmovilización (un total de siete sesiones de 2 hs de duración cada una) se observó hiperactividad basal en los primeros 10 min de la prueba en todos los grupos (excepto en los animales controles no estrés), efecto que desapareció durante la habituación y en la fase de respuesta al vehículo, pero que se manifestó nuevamente ante la administración de 5 mg/kg de cocaína. Cabe destacar que estas respuestas no fueron permanentes puesto que no se observaron 21 días después de la última sesión de estrés crónico por inmovilización (Figs. 3D y 3E, respectivamente) (resultados no publicados). En resumen, cuando se evaluaron los efectos estimulantes locomotores de cocaína, respuestas opuestas fueron reportadas, dependiendo del período del desarrollo en el que ocurrió la exposición y de las condiciones experimentales en las que fueron evaluadas. Interesantemente, las respuestas también son contradictorias cuando se evalúan sus efectos reforzantes debido a que la exposición prenatal a Pb reduce significativamente la preferencia por un sitio asociado a la droga (Miller y cols, 2000a) pero aumenta su autoadministración (Rocha y cols, 2005). Así, el período de la vida del animal en el cual ocurre la exposición a Pb parece ser crucial al determinar los efectos subsecuentes sobre las conductas relacionadas a la adicción a cocaína.

4.2) Opioides:

Estudios pioneros en neonatos expuestos a altas dosis de Pb durante el desarrollo realizados por Kitchen y cols (1984) demostraron que la presencia del metal altera el desarrollo de los sistemas de receptores opioides, efectos que podrían persistir en la adultez, sugiriendo una relación entre la exposición a Pb y la adicción a opioides (Kitchen y Kelly, 1993). Cuando se comparó la exposición a Pb durante el desarrollo en relación a la edad adulta, se observó una reducción en la actividad locomotora inducida por morfina en los animales adultos, en tanto que la exposición temprana a Pb dio como resultado una respuesta conductual aumentada a la droga, indicando nuevamente que el período al cual ocurre la exposición a Pb es un contribuyente significativo a la manifestación de sus efectos (Miller y cols, 2000b). Sin embargo, las propiedades reforzantes muestran efectos diferenciales puesto que el condicionamiento a un sitio previamente asociado a morfina (Valles y cols, 2003), o la autoadministración de esta droga (Cardon y cols, 2004) se vio reducida por la exposición a Pb durante el desarrollo. En conclusión, los efectos estimulantes de los opioides muestran una atenuación cuando la exposición a Pb se produce en el período adulto, mientras que la presencia del metal durante el desarrollo incrementa la respuesta a morfina (Miller y cols, 2000b). Sin embargo, las evidencias apuntan a direcciones opuestas para los efectos reforzantes, puesto que la exposición perinatal a Pb reduce significativamente la preferencia a un sitio asociado a morfina (Valles y cols, 2003).

4.3) Etanol:

Además de los factores ambientales mencionados anteriormente en los que se ha puesto un énfasis particular en el estrés, variables relacionadas al estilo de vida tales como el consumo de alcohol está también positivamente asociado con niveles sanguíneos de Pb. Esto es evidente aún cuando las diferencias en las variables sociodemográficas estén controladas y puedan por lo tanto converger en peligros adicionales para la salud ocasionando alteraciones en el desarrollo de niños (Hense y cols, 1992; Shaper y cols, 1982) y de mujeres embarazadas (Rhains y Levallois, 1997). Se ha indicado además que el consumo excesivo de etanol eleva los niveles de Pb en sangre (Pizent y cols, 2001) y los parámetros bioquímicos indicativos de intoxicación con Pb (Lopez y cols, 2002). Sin embargo, en los estudios experimentales que se mencionan a continuación se descartó la posibilidad de diferencias toxicocinéticas como resultado de la exposición a Pb mediante mediciones de alcohol en sangre, sugiriendo que ambos neurotóxicos podrían estar interaccionando en un sitio de acción común (Burkey y cols, 1994; Correa y cols, 2001, 2000, 1999; Mattalloni y cols, 2013; Nation y cols, 1993) como será brevemente señalado al final de esta revisión.

En relación a los efectos del etanol en animales de experimentación, las primeras evidencias experimentales demostraron que la exposición a Pb en la edad adulta atenuaría algunas respuestas a los efectos farmacológicos del etanol tales como la analgesia (Burkey y cols, 1994), y el palanqueo por etanol en un paradigma de autoadministración oral de la droga (Nation y cols, 1991, 1986). Sin embargo, animales adultos expuestos a Pb mostraron un incrementado consumo oral de etanol (Nation y cols, 1986), resultado que fue replicado por nosotros en animales periadolescentes expuestos a Pb durante el desarrollo (Mattalloni y cols, 2013; Virgolini, 1999) y que será abordado en profundidad en las secciones siguientes:

4.3.1) La perspectiva del reforzamiento negativo:

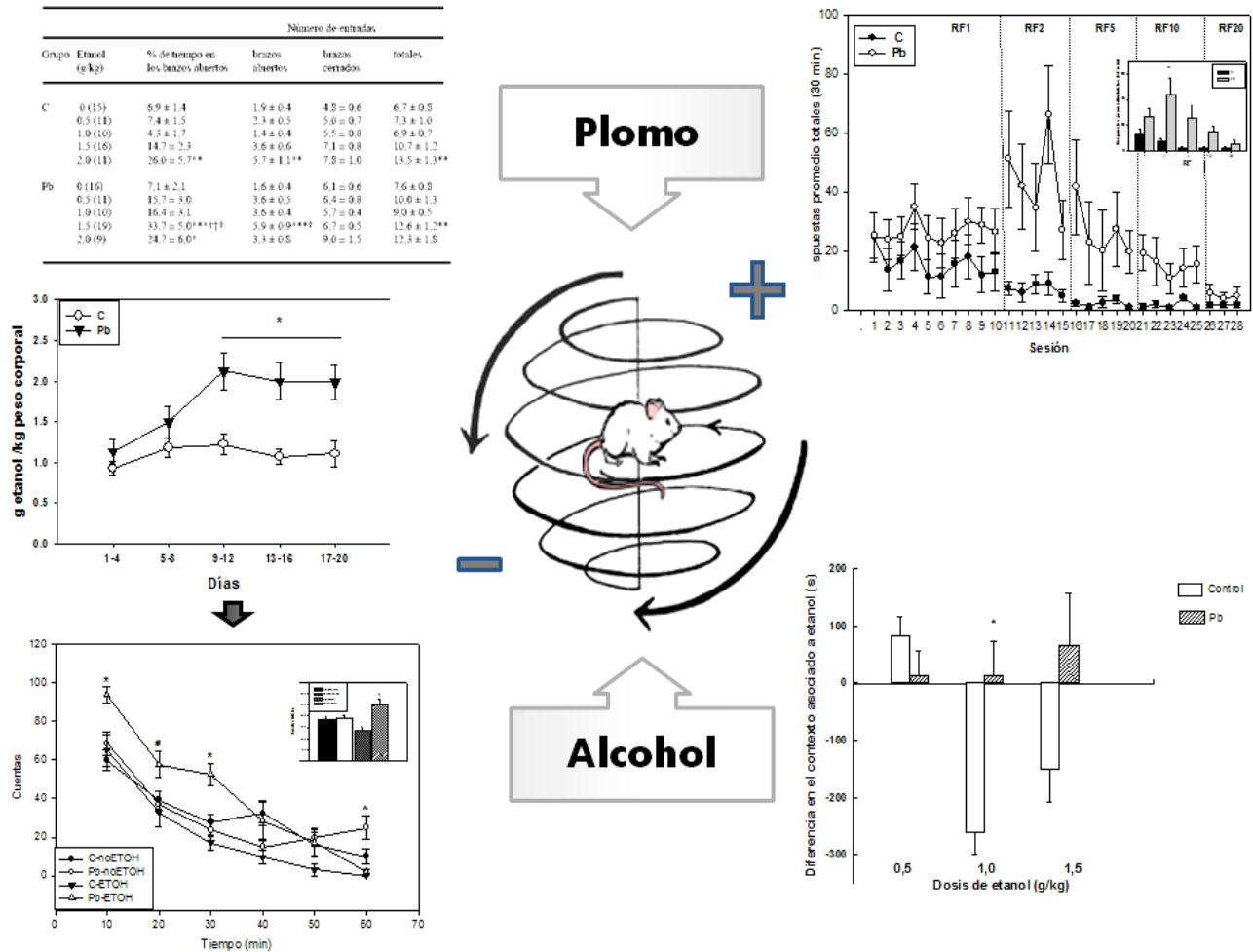
Sobre las bases de que el etanol es considerado una droga ansiolítica, la hipótesis de reducción de la tensión propone que el consumo excesivo de etanol podría responder a la necesidad del individuo de mitigar la ansiedad que pudiera estar experimentando (Pohorecky, 1981), aspecto directamente relacionado con las propiedades reforzantes negativas de la droga. A este respecto, y como se mencionó anteriormente, en animales periadolescentes expuestos a Pb durante el desarrollo demostramos un mayor consumo voluntario de etanol, lo que podría estar relacionado con los elevados niveles basales de corticosterona y mayor reactividad al estrés y a los efectos ansiolíticos de etanol reportados por nosotros (Fig. 4A) (Virgolini y cols, 1999, 2004).

Coincidentemente, otros autores han sugerido que niveles basales elevados de corticosterona condicionarían un incrementado consumo de etanol (Prasad y Prasad, 1995) puesto que se ha demostrado que la remoción de las adrenales (Fahlke y cols, 1994b) o la administración de metopirona –inhibidor de la síntesis de corticoides (Fahlke y cols, 1994a y b) disminuyeron, mientras que el reemplazo con corticosterona tanto i.p. (Fahlke y cols, 1994b) como i.c.v. (Fahlke y cols, 1996) restableció el consumo de etanol en animales que ingirieron cantidades moderadas de alcohol así como en animales que naturalmente prefieren el etanol (Fahlke y Eriksson, 2000).

4.3.2) La perspectiva del reforzamiento positivo:

Resultados publicados recientemente por nosotros demuestran que las mayores cantidades de etanol consumidas por los animales expuestos al Pb durante las sesiones de consumo diario fueron suficientes para inducir un incremento en la actividad locomotora inmediatamente después en animales que habían sido habituados a los actógrafos el día anterior (Figs. 4B y 4C), revelando un mayor efecto estimulante de etanol en estos animales (Mattalloni y cols, 2013).

Figura 4.



Izquierda: (A): los datos de la Tabla representan parámetros indicativos del efecto ansiolítico de etanol en el laberinto en cruz elevado ("plus maze") en respuesta a 0; 0,5; 1,0; 1,5 ó 2,0 g/kg de etanol. * $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,001$ comparado con el grupo respectivo inyectado con SAL (0 g/kg de etanol). $\#p < 0,05$ y $\dagger\dagger\dagger p < 0,001$ comparado con el grupo control inyectado con la misma dosis de etanol. Los valores representan las medias + el error estándar. (B): consumo voluntario de etanol en animales controles y expuestos a Pb. Los datos (medias + error estándar) fueron agrupados en bloques de 4 días en el eje horizontal correspondiente a concentraciones crecientes de etanol (días 1-4: 2%; días 5-8: 4%; días 9-12: 6%; días 13-16: 8%, y días 17-28: 10%). *Denota $p < 0,002$ en comparación con los animales controles. (C): el gráfico representa la actividad locomotora evaluada inmediatamente después del consumo voluntario de etanol. Se presenta junto con la locomoción de animales que no han consumido etanol, todos habituados a los actógrafos el día anterior. *denota $p < 0,05$ comparada con todos los grupos a igual tiempo; #denota $p < 0,05$ en relación a los animales controles que han consumido etanol a igual tiempo y ^denota $p < 0,05$ entre el grupo Pb que consumió en relación al que no consumió etanol. *Inserto:* la letra "a" indica una diferencia significativa de todos los otros grupos a $p < 0,02$. C-ETOH= grupo control con consumo de etanol; C-noETOH= grupo control sin consumo de etanol; Pb-ETOH= grupo Pb con consumo de etanol; Pb-noETOH= grupo Pb sin consumo de etanol. **Derecha:** (D): adquisición de la autoadministración de 10% de etanol en una escala progresiva a lo largo de las sesiones de razón fija (RF) entre RF=1 y RF=20. El gráfico indica el promedio de respuestas por sesión en la palanca activa (28 sesiones en total). *Inserto:* promedio de respuestas para cada requerimiento de RF. *indica $p < 0,02$ en relación a todas las otras barras. (E): condicionamiento a un contexto asociado a la administración de 0,5; 1,0 ó 1,5 g/kg de etanol en animales sometidos a ocho sesiones diarias alternadas de SAL y etanol. * $p < 0,001$ con respecto al grupo control a la misma dosis de etanol. **Centro:** Espiral que representa la transición desde las primeras fases de la adicción con predominio del reforzamiento positivo hacia estados más tardíos con preeminencia de reforzamiento negativo. Las flechas representan los efectos que tanto plomo como etanol ejercerían en el proceso de adicción. **Tomada de:** Virgolini y cols, 1999 (A); Mattalloni y cols, 2013 (B-D) y Virgolini, 1999 (E).

Por otra parte, las propiedades reforzantes de etanol fueron también abordadas en un paradigma de conducta operante (Fig. 4D), en el cual los animales fueron entrenados para palanquear por una solución de etanol al 10% a requerimientos de palanqueo crecientes. Los resultados evidencian una mayor tasa de palanqueo a la razón fija (RF)=2 en los animales expuestos a Pb, lo cual estuvo asociado a un mayor punto de quiebre (RF=5 para los controles vs. RF=20 para el grupo expuesto a Pb), índice que refleja el mayor esfuerzo que está dispuesto a realizar el animal para obtener la recompensa, en este caso la solución de etanol. Cuando la prueba de condicionamiento asociado a un sitio fue empleada para evaluar los efectos reforzantes de etanol (Fig. 4E), se pudo observar que la aversión por el sitio previamente asociado con el etanol que fue observada en los animales controles no se evidenció en el grupo perinatalmente expuesto a Pb, indicando una menor respuesta aversiva al etanol en estos animales (Virgolini, 1999). Finalmente, y a la luz de los resultados presentados en esta sección, es importante mencionar que en la búsqueda del mecanismo para la adquisición de la conducta de consumo de etanol en ratas expuestas a Pb, y considerando el rol primordial del reforzamiento positivo en los estados tempranos del proceso de adicción, se ha demostrado que la administración aguda de Pb a ratones produjo una potenciación en la respuesta locomotora a etanol (pero no en la actividad espontánea) (Correa y cols, 2000, 1999). Este efecto también fue observado en presencia de una exposición crónica a Pb durante el desarrollo del individuo (Mattalloni y cols, 2013; Somashekaraiah y cols, 1992; Valenzuela y cols, 1989), demostrando las propiedades activadoras del metal sobre los efectos de etanol cuando es administrado en forma aguda o en organismos en formación. Interesantemente, estos efectos fueron selectivos para el etanol ya que no fueron observados en respuesta a otras drogas como anfetamina o alcohol de cadena corta (Correa y cols, 2005, 1999). Sobre la premisa de que el acetaldehído generado en cerebro tendría propiedades reforzantes positivas (Correa y cols, 2012), tanto otros investigadores como nosotros hemos postulado que catalasa, principal enzima involucrada en la oxidación cerebral de etanol a acetaldehído sería el sitio de acción común para Pb y etanol, puesto que tanto su activación (Manrique y cols, 2006; Mattalloni y cols, 2013) como inhibición farmacológica (Mattalloni y cols, 2013) o genética (Karahanian y cols, 2011; Quintanilla y cols, 2012) modifica las respuestas estimulantes y motivacionales al etanol.

5) CONCLUSIÓN

Los esfuerzos actuales para reducir las posibilidades de exposición a tóxicos ambientales como el Pb son constantes. Concretamente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha

incluido recientemente al Pb dentro de una lista de diez productos químicos “causantes de graves problemas de salud pública que exigen la intervención de los Estados Miembros para proteger la salud de los trabajadores, los niños y las mujeres en edad fecunda”. Así, la literatura citada en esta revisión sobre las alteraciones inducidas por este metal en organismos en desarrollo ha puesto énfasis en las evidencias que el Pb presente en el ambiente actúa como neurotóxico del desarrollo modificando las respuestas a las drogas de abuso, las cuales difieren en relación a los períodos de desarrollo en los cuales transcurre la exposición. Sin dudas, el período de desarrollo temprano conforma la etapa de mayor vulnerabilidad a la impronta de eventos o sustancias químicas para determinar la manifestación de los efectos neurotóxicos. Así, los factores ambientales discutidos en esta revisión (el Pb mismo, o situaciones estresantes) al interactuar potenciarían la vulnerabilidad a desarrollar conductas adictivas. Estos factores se constituyen como inductores de la carga alostática de un organismo que, frente a las drogas reacciona disparando conductas anómalas como las mencionadas. La superposición de los circuitos neuronales utilizados por las drogas de abuso como también por los agentes y factores ambientales discutidos en esta revisión revela la necesidad de estudiar los mecanismos celulares y moleculares por los cuales se producen estas interacciones.

AGRADECIMIENTOS

La mayor parte de los experimentos presentados en esta revisión fueron realizados por MBV durante su Tesis Doctoral (financiada por una beca de CONICOR, agencia perteneciente al gobierno de la Provincia de Córdoba, Argentina), durante su estadía Postdoctoral en EE.UU. (bajo la supervisión de la Dra. Deborah Cory-Slechta) y durante sus inicios en la Carrera de Investigador Científico de CONICET, financiada por una beca de reinscripción de CONICET en el marco del Programa Raíces para el retorno de investigadores a Argentina. Los experimentos presentados fueron financiados por la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SECYT) perteneciente a la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de la República Argentina.

Se agradece especialmente a la estudiante de Doctorado Biol. Mara Mattalloni por su gran dedicación al trabajo y compromiso en la continuidad de los experimentos presentados en esta revisión, a la Psicol. Laura De Giovanni por su colaboración en los experimentos de autoadministración, a la Bioq. Romina Deza Ponzio y a la estudiante de Bioq. Paula Albrecht que, con gran entusiasmo se están iniciando en esta temática.

Se declara que no existen conflictos de interés.

BIBLIOGRAFÍA:

- Badiani A., Anagnostaras S.G., Robinson T.E. (1995) The development of sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine is enhanced in a novel environment. *Psychopharmacology (Berl)*. 117, 443–52.
- Barrett J., Livesey P.J. (1985) Low level lead effects on activity under varying stress conditions in the developing rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 22, 107–18.
- Bellinger D.C., Bellinger A.M. (2006) Childhood lead poisoning: the torturous path from science to policy. *J. Clin. Invest.* 116, 853–7.
- Braun J.M., Kahn R.S., Froehlich T., Auinger P., Lanphear B.P. (2006) Exposures to environmental toxicants and attention deficit hyperactivity disorder in U.S. children. *Environ. Health Perspect.* 114, 1904–9.
- Burkey R.T., Nation J.R., Bratton G.R. (1994) Chronic lead exposure attenuates ethanol-induced hypoalgesia. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 47, 227–231.
- Cardon A.L., Rocha A., Valles R., Bratton G.R., Nation J.R. (2004) Exposure to cadmium during gestation and lactation decreases cocaine self-administration in rats. *Neurotoxicology* 25, 869–75.
- Chefer V., Thompson A.C., Shippenberg T.S. (1999) Modulation of cocaine-induced sensitization by kappa-opioid receptor agonists. Role of the nucleus accumbens and medial prefrontal cortex. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 877, 803–6.
- Cooney C.M. (2011) Stress-pollution interactions: an emerging issue in children's health research. *Environ. Health Perspect.* 119, A431–5.
- Correa M., Miquel M., Aragon C.M. (2000) Lead acetate potentiates brain catalase activity and enhances ethanol-induced locomotion in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 66, 137–42.
- Correa M., Miquel M., Sanchis-Segura C., Aragon C.M. (1999) Acute lead acetate administration potentiates ethanol-induced locomotor activity in mice: the role of brain catalase. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 23, 799–805.
- Correa M., Pascual M., Sanchis-Segura C., Guerri C., Aragon C.M.G. (2005) Lead-induced catalase activity differentially modulates behaviors induced by short-chain alcohols 82, 443–452.
- Correa M., Salamone J.D., Segovia K.N., Pardo M., Longoni R., Spina L., Peana A.T., Vinci S., Acquas E. (2012) Piecing together the puzzle of acetaldehyde as a neuroactive agent. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 404–30.
- Correa M., Sanchis-Segura C., Aragon C.M.G. (2001) Influence of brain catalase on ethanol-induced loss of righting reflex in mice. *Drug Alcohol Depend.* 65, 9–15.
- Cory-Slechta D. A., Pokora M.J., Preston R. A. (1994) The effects of dopamine agonists on fixed interval schedule-controlled behavior are selectively altered by low-level lead exposure. *Neurotoxicol. Teratol.* 18, 565–75.
- Cory-Slechta D.A. (1990). Exposure duration modifies the effects of low level lead of fixed-interval performance. *Neurotoxicology* 11, 427–41.
- Cory-Slechta D.A. (1994) The impact of NMDA receptor antagonists on learning and memory functions. *Psychopharmacol. Bull.* 30, 601–12.
- Cory-Slechta D.A., Virgolini M.B., Rossi-George A., Thiruchelvam M., Lisek R., Weston D. (2008) Lifetime consequences of combined maternal lead and stress. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 102, 218–27.
- Cory-Slechta D.A., Virgolini M.B., Thiruchelvam M., Weston D.D., Bauter M.R. (2004) Maternal stress modulates the effects of developmental lead exposure. *Environ. Health Perspect.* 112, 717–30.
- Dalley J.W., Fryer T.D., Brichard L., Robinson E.S.J., Theobald D.E.H., Lääne K., Peña Y., Murphy E.R., Shah Y., Probst K., Abakumova I., Aigbirhio F.I., Richards H.K., Hong Y., Baron J.C., Everitt B.J., Robbins T.W. (2007) Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science* 315, 1267–70.
- Darcheville J.C., Rivière V., Wearden J.H. (1992) Fixed-interval performance and self-control in children. *J. Exp. Anal. Behav.* 57, 187–99.
- Darcheville J.C., Rivière V., Wearden J.H. (1993) Fixed-interval performance and self-control in infants. *J. Exp. Anal. Behav.* 60, 239–54.
- DiSalvo, L., Aab C., Pereyras S., Pattín J., Apezteguía M., Iannicelli J.C., Girardelli A., Varea A. (2009) Plumbemia en niños de la ciudad de La Plata, Argentina y su relación con la deficiencia de hierro y los factores de exposición al plomo. *Arch Argent Pediatr* 107, 300–306.
- Ersche K.D., Turton A.J., Pradhan S., Bullmore E.T., Robbins T.W. (2010) Drug addiction endophenotypes: impulsive versus sensation-seeking personality traits. *Biol. Psychiatry* 68, 770–3.
- Fahlke C., Engel J.A., Eriksson, C.J., Hård, E., Söderpalm, B., 1994a. Involvement of corticosterone in the modulation of ethanol consumption in the rat. *Alcohol* 11, 195–202.
- Fahlke C., Eriksson C.J. (2000) Effect of adrenalectomy and exposure to corticosterone on alcohol intake in alcohol-preferring and alcohol-avoiding rat lines. *Alcohol* 25, 139–44.
- Fahlke C., Hård E., Hansen S. (1996) Facilitation of ethanol consumption by intracerebroventricular infusions of corticosterone. *Psychopharmacology (Berl)*. 127, 133–9.
- Fahlke C., Thomasson R., Hård E., Engel J.A., Hansen S. (1994b) Taste reactivity to ethanol in rats: influence of adrenalectomy or ipsapirone. *Alcohol* 11, 289–94.
- Fernando A.B.P., Robbins T.W. (2011) Animal models of neuropsychiatric disorders. *Annu. Rev. Clin. Psychol.* 7, 39–61.
- Fortin M.C., Cory-Slechta D.A., Ohman-Strickland P., Nwankwo C., Yanger T.S., Todd A.C., Moynihan J., Walton J., Brooks A., Fiedler N. (2012) Increased lead biomarker levels are associated with changes in hormonal response to stress in occupationally exposed male participants. *Environ. Health Perspect.* 120, 278–83.
- Forum CDC Updates Guidelines for Children's Lead Exposure, 2012. 2012.
- Gallicchio L., Scherer R.W., Sexton M. (2002) Influence of nutrient intake on blood lead levels of young children at risk for lead poisoning. *Environ. Health Perspect.* 110, A767–72.
- Gilpin N.W., Koob G.F. (2008) Neurobiology of Alcohol Dependence: Focus on Motivational Mechanisms *Alcohol Res. Health* 31, 185–195.
- Grover C.A., Nation J.R., Bratton G.R. (1993) Chronic exposure to lead attenuates cocaine-induced behavioral activation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 44, 221–5.
- Guilarte T.R., Toscano C.D., McGlothlan J.L., Weaver S.A. (2003) Environmental enrichment reverses cognitive and molecular deficits induced by developmental lead exposure. *Ann. Neurol.* 53, 50–6.
- Gump B.B., Stewart P., Reihman J., Lonky E., Darvill T., Parsons P.J., Granger D.A. (2008) Low-level prenatal and postnatal blood lead exposure and adrenocortical responses to acute stress in children. *Environ. Health Perspect.* 116, 249–55.
- Haider S., Saleem S., Tabassum S., Khaliq S., Shamim S., Batool Z., Parveen T., Inam Q., Haleem D.J. (2013) Alteration in plasma corticosterone levels following long term oral administration of lead produces depression like symptoms in rats. *Metab. Brain Dis.* 28, 85–92.
- Heilig M., Koob G.F. (2007) A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. *Trends Neurosci.* 30, 399–406.
- Hense H.W., Filipiak B., Novak L., Stoeppler M. (1992) Nonoccupational determinants of blood lead concentrations in a general population. *Int. J. Epidemiol.* 21, 753–62.

- Karahanian E., Quintanilla M.E., Tampier L., Rivera-Meza M., Bustamante D., Gonzalez-Lira V., Morales P., Herrera-Marschitz M., Israel Y. (2011) Ethanol as a prodrug: brain metabolism of ethanol mediates its reinforcing effects. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 35, 606–12.
- Kelley A.E., Lang C.G. (1989) Effects of GBR 12909, a selective dopamine uptake inhibitor, on motor activity and operant behavior in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 167, 385–95.
- Kitchen I., Kelly M. (1993) Effect of perinatal lead treatment on morphine dependence in the adult rat. *Neurotoxicology* 14, 125–9.
- Kitchen I., McDowell J., Winder C., Wilson J.M. (1984) Low-level lead exposure alters morphine antinociception in neonatal rats. *Toxicol. Lett.* 22, 119–23.
- Koob G., Bloom F. (1988) Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* (80) 242, 715–723.
- Koob G.F. (2003) Alcoholism: allostasis and beyond. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 27, 232–43.
- Koob G.F. (2013) Addiction is a Reward Deficit and Stress Surfeit Disorder. *Front. Psychiatry* 4, 72.
- Lee M.G., Chun O.K., Song W.O. (2005) Determinants of the blood lead level of US women of reproductive age. *J. Am. Coll. Nutr.* 24, 1–9.
- Lopez C.M., Vallejo N.E., Piñeiro A.E., Uicich R., Damin C.F., Sarchi M.I., Villamil Lepori E.C., Roses O.E. (2002) Alteration of biochemical parameters related with exposure to lead in heavy alcohol drinkers. *Pharmacol. Res.* 45, 47–50.
- Manrique M., Miquel M., Aragon C.M.G. (2006) Acute administration of 3-nitropropionic acid, a reactive oxygen species generator, boosts ethanol-induced locomotor stimulation. New support for the role of brain catalase in the behavioural effects of ethanol. *Neuropharmacology* 51:1137–45.
- Mattalloni M.S., Deza-Ponzio R., De Giovanni L.N., Virgolini M.B. (2014) Algo de plomo es demasiado plomo para los organismos en desarrollo? (Any lead is too much lead for developing organisms?). *Bitacora Digit. UNC* 2, 1–4.
- Mattalloni M.S., De Giovanni L.N., Molina J.C., Cancela L.M., Virgolini M.B. (2013) Participation of catalase in voluntary ethanol consumption in perinatally low-level lead-exposed rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 37, 1632–42.
- McEwen B.S. (1993) Stress and the Individual. *Arch. Intern. Med.* 153, 2093.
- Miller D.K., Nation J.R., Bratton G.R. (2000a) Perinatal exposure to lead attenuates the conditioned reinforcing properties of cocaine in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67, 111–119.
- Miller D.K., Nation J.R., Jost T.E., Schell J.B., Bratton G.R. (2000b) Differential effects of adult and perinatal lead exposure on morphine-induced locomotor activity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67, 281–90.
- Moreira E.G., Vassilief I., Vassilief V.S. (2001) Developmental lead exposure: behavioral alterations in the short and long term. *Neurotoxicol. Teratol.* 23, 489–495.
- Nation J.R., Baker D.M., Taylor B., Clark D.E. (1986) Dietary lead increases ethanol consumption in the rat. *Behav. Neurosci.* 100, 525–30.
- Nation J.R., Burkey R.T., Grover C.A. (1993) Lead/ethanol interactions II: Pharmacokinetics. *Alcohol* 10, 363–367.
- Nation J.R., Cardon A.L., Heard H.M., Valles R., Bratton G.R. (2003) Perinatal lead exposure and relapse to drug-seeking behavior in the rat: a cocaine reinstatement study. *Psychopharmacology (Berl)*. 168, 236–43.
- Nation J.R., Dugger L.M., Dwyer K.K., Bratton G.R., Grover C.A. (1991) The effects of dietary lead on ethanol-reinforced responding. *Alcohol Alcohol* 26, 473–80.
- Nation J.R., Livermore C.L., Burkey R.T. (1996) Chronic lead exposure attenuates sensitization to the locomotor-stimulating effects of cocaine. *Drug Alcohol Depend.* 41, 143–149.
- Nation J.R., Miller D.K., Bratton G.R. (2000) Developmental lead exposure alters the stimulatory properties of cocaine at PND 30 and PND 90 in the rat. *Neuropsychopharmacology* 23, 444–54.
- Nation J.R., Smith K.R., Bratton G.R. (2004) Early developmental lead exposure increases sensitivity to cocaine in a self-administration paradigm. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 77, 127–135.
- Patrick L. (2006) Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Altern. Med. Rev.* 11, 2–22.
- Piazza P. V., Deminière J.M., Le Moal M., Simon H. (1989) Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* 245, 1511–3.
- Pizent A., Jurasovic J., Telisman S. (2001) Blood pressure in relation to dietary calcium intake, alcohol consumption, blood lead, and blood cadmium in female nonsmokers. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 15, 123–30.
- Pohorecky L.A. (1981) The interaction of alcohol and stress. A review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 5, 209–29.
- Prasad C., Prasad A. (1995) A relationship between increased voluntary alcohol preference and basal hypercorticotestosterone associated with an attenuated rise in corticosterone output during stress. *Alcohol* 12, 59–63.
- Quintanilla E., Tampier L., Karahanian E., Rivera-Meza M. (2012) Reward and Relapse : Complete Gene-Induced Dissociation in an Animal Model of Alcohol Dependence 36, 517–522.
- Rafales L.S., Greenland R.D., Zenick H., Goldsmith M., Michaelson I.A. (1981) Responsiveness to d-amphetamine in lead-exposed rats as measured by steady state levels of catecholamines and locomotor activity. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 3, 363–7.
- Rhainds M., Levallois P. (1997) Effects of maternal cigarette smoking and alcohol consumption on blood lead levels of newborns. *Am. J. Epidemiol.* 145, 250–7.
- Rocha A., Valles R., Cardon A.L., Bratton G.R., Nation J.R. (2005) Enhanced Acquisition of Cocaine Self-Administration in Rats Developmentally Exposed to Lead. *Neuropsychopharmacol.* 11, 2058–2064.
- Rosen J.B., Young A.M., Beuthin F.C., Louis-Ferdinand R.T. (1986) Discriminative stimulus properties of amphetamine and other stimulants in lead-exposed and normal rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 24, 211–5.
- Rossi-George A., Virgolini M.B., Weston D., Cory-Slechta D.A. (2009) Alterations in glucocorticoid negative feedback following maternal Pb, prenatal stress and the combination: a potential biological unifying mechanism for their corresponding disease profiles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 234, 117–27.
- Rossi-George A., Virgolini M.B., Weston D., Thiruchelvam M., Cory-Slechta D.A. (2011) Interactions of lifetime lead exposure and stress: behavioral, neurochemical and HPA axis effects. *Neurotoxicology* 32, 83–99.
- Sauerhoff M.W., Michaelson I.A. (1973) Hyperactivity and Brain Catecholamines in Lead-Exposed Developing Rats. *Science* (80) 182, 1022–1024.
- Schneider J.S., Lee M.H., Anderson D.W., Zuck L., Lidsky T.I. (2001) Enriched environment during development is protective against lead-induced neurotoxicity. *Brain Res.* 896, 48–55.
- Shaper A.G., Pocock S.J., Walker M., Wale C.J., Clayton B., Delves H.T., Hinks L. (1982) Effects of alcohol and smoking on blood lead in middle-aged British men. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed)*. 284, 299–302.

- Silbergeld E.K., Goldberg A.M. (1974) Lead-induced behavioral dysfunction: An animal model of hyperactivity. *Exp. Neurol.* 42, 146–157.
- Somashekaraiah B. V., Padmaja K., Prasad A.R. (1992) Lead-induced lipid peroxidation and antioxidant defense components of developing chick embryos. *Free Radic. Biol. Med.* 13, 107–14.
- Tiffany-Castiglioni E., Sierra E.M., Wu J.N., Rowles T.K. (1989) Lead toxicity in neuroglia. *Neurotoxicology* 10, 417–43.
- Valenzuela A., Lefauconnier J.M., Chaudiere J., Bourre J.M. (1989) Effects of lead acetate on cerebral glutathione peroxidase and catalase in the suckling rat. *Neurotoxicology* 10, 63–9.
- Valles R., Cardon A.L., Heard H.M., Bratton G.R., Nation J.R. (2003) Morphine conditioned place preference is attenuated by perinatal lead exposure. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75, 295–300.
- Virgolini, M.B. (1999) Efectos postnatales inducidos por la exposición a plomo durante la gestación y la lactancia en ratas. Tesis Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Virgolini M.B., Bauter M.R., Weston D.D., Cory-Slechta D.A. (2006) Permanent alterations in stress responsivity in female offspring subjected to combined maternal lead exposure and/or stress. *Neurotoxicology* 27, 11–21.
- Virgolini M.B., Rossi-George A., Lisek R., Weston D.D., Thiruchelvam M., Cory-Slechta D.A. (2008^a) CNS effects of developmental Pb exposure are enhanced by combined maternal and offspring stress. *Neurotoxicology* 29, 812–27.
- Virgolini M.B., Rossi-George A., Weston D., Cory-Slechta D.A. (2008^b) Influence of low level maternal Pb exposure and prenatal stress on offspring stress challenge responsivity. *Neurotoxicology* 29, 928–39.
- Virgolini M.B., Volosin M., Fulginiti A.S., Cancela L.M. (2004) Amphetamine and stress responses in developmentally lead-exposed rats. *Neurotoxicol. Teratol.* 26, 291–303.
- Wince L.C., Donovan C.A., Azzaro A.J. (1980) Alterations in the biochemical properties of central dopamine synapses following chronic postnatal PbCO₃ exposure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 214, 642–50.
- Wise R.A., Bozarth M.A. (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 94, 469–492.
- Wright P.B., Budoff J.E., Yeh M.L., Kelm Z.S., Luo Z.P. (2007) The properties of damaged and undamaged suture used in metal and bioabsorbable anchors: an in vitro study. *Arthroscopy* 23, 655–61.
- Yu S.Y., Mizinga K.M., Nonavinakere V.K., Soliman K.F.A. (1996) Decreased endurance to cold water swimming and delayed sexual maturity in the rat following neonatal lead exposure. *Toxicol. Lett.* 85, 135–141.
- Zenick H., Goldsmith M. (1981) Drug discrimination learning in lead-exposed rats. *Science* 212, 569–71.

ABSTRACT

The sustained reduction across years in the blood lead (Pb) levels considered "safe" for developing organisms reveals the increasing concern for the subclinical effects resulting from the exposure to this persistent environmental neurotoxicant. The present revision compiles behavioral evidences in animal models exposed to low-level Pb in different stages of life, mainly during early development, focusing on addiction vulnerability to psychostimulants and alcohol. The consequences of the co-existence of endofactors such as stress in the modulation of these responses are also discussed. Positive and negative reinforcement as determinants of the behavioral manifestations emerged from the data presented here, particularly regarding to alcohol vulnerability. The evidences demonstrated that the imprint resulting from the contact with the metal during development, or the concomitant presence with other chemical agents in later stages of life are determinant to the reactivity of these organisms to challenging situations such as the initiation to addictive behaviors, particularly to drug abuse. It becomes imperative to approach a deep study of the neurobiological basis in order to identify shared mechanisms for these neurotoxicants that impact in the modulation of these behaviors.

Keywords: Lead, ethanol, amphetamine, cocaine, stress, neurotoxicants, environmental contaminants, drug addiction.

LONG TERM CONSEQUENCES OF IN UTERO ENDOCRINE DISRUPTORS EXPOSURE ON MALE OFFSPRING DEVELOPMENT

(Consecuencias a largo plazo de la exposición in utero a interruptores endócrinos sobre el desarrollo de la cría macho)

Maria Eugenia Pallarés and Marta C. Antonelli

Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. Eduardo De Robertis", Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

ABSTRACT

Early life events have long lasting impacts on tissue structure and function. It is accepted that there is an association between environmental challenge during pregnancy and later pathophysiology, a concept that has been named 'developmental programming'. The environmental adversity acts on specific tissues of the foetus during sensitive periods in its development to change developmental trajectories and thus their organisation and function. During the prenatal period, gonadal steroid hormones (i.e. oestrogens and androgens) *organise* the developing brain by changing the architecture of several neural substrates which later in puberty are *activated* by the gonadal steroids surge in a directed manner. Endocrine disruptors may distort or shift the organism's normal patterns of response to environmental or internal conditions and if present during the gestational period, severe morphological and functional impairments have been observed in the offspring. In this mini-review we will summarize the literature available on endocrine disruptors (ED) exposure during pregnancy and the influence on the outcome of the male offspring. Additionally, the effects of the non-steroidal ED flutamide will be discussed in view of the similarities detected with the prenatal stress effects observed on male offspring.

Keywords: *developmental programming; gonadal steroid hormones; male rat offspring; dopaminergic system; prenatal stress; flutamide.*

Rev. Farmacol. Chile (2014) 7(2) 39-44

Received 19-09-2014; Revised 21-09-2014; Accepted 30-09-2014

1) SEXUAL DIFFERENTIATION OF THE MALE REPRODUCTIVE TRACT

The primordial germ cells are the source of the spermatogonia cell line in males and oogonia in females. In males, the Y chromosome presents a gene called the testis determining factor (TDF) which initiates testicular differentiation. The moment when the testis is first formed and the fetus distinguished as being a male is termed *sexual differentiation* (Brennan and Capel, 2004, Polanco and Koopman, 2007). The testes produce *mullerian duct inhibiting hormone* (MIH) which prevents the development and differentiation of the female internal reproductive organs and the testicular Leydig cells begin to produce *testosterone* which stimulates the development and differentiation of the Wolffian duct. The Wolffian duct gives rise to the male structures such as the ductus deferens, seminal vesicles and epididymis.

It is important to point out that the process by which the sexually indifferent fetus with a testis attains differentiated testes that secrete hormones and is transformed into a phenotypic male with internal and external male genitalia is called *masculinization*. The period during which the reproductive tract differentiate to the internal and external genitalia is called the *masculinization programming window* which in rats, roughly extends from embryonic day 17,5 to 19,5 (Scott et al., 2009).

Cholesterol is the precursor for all sex steroids and the influence of gonadal steroids on sexual differentiation becomes apparent after all steroid hormones and their receptors are functional. Testosterone, estrogen and their metabolites play important roles sexual differentiation, (Gorski, 2000, Karaismailoglu and Erdem, 2013).

Correspondence to: Dr. Marta C. Antonelli: Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. Eduardo De Robertis"; Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Dirección: Paraguay 2155, 3°Piso. (C1121ABG). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; Tel.: +54 11 5950-950056, Anexo 2240; E-mail: mca@fmed.uba.ar

Insufficient testosterone production or action during the masculinisation programming window in the foetal rat can result in disorders of masculinisation including malformation of the penis, cryptorchidism and reduced anogenital distance.

2) MASCULINIZATION OF THE BRAIN

It is now accepted that the reproductive system depends on the brain. Sexual dimorphism refers to the phenotypic differences between males and females of the same species and is observed not only in the reproductive system but also in the central nervous system and cognitive functions as well. As much as the genitalia, the regions of the brain directly involved with reproduction undergoes hormone-dependent sexual differentiation. This masculinization of the brain occurs perinatally in rodents (Arnold and Gorski, 1984, McCarthy and Konkle, 2005). Circulating testosterone can cross the blood-brain barrier and enter the cell, where it binds to its intracellular receptor. Testosterone can be converted to dihydrotestosterone (DHT) by 5-alpha reductase or to 17B-estradiol by aromatase enzymes. The direction of adult hormonal responsiveness will dictate sex-specific behaviour and physiology (Zhang et al., 2010). Although the main mechanism for masculinization of the brain is via the neural aromatization of testosterone to estrogen, DHT and other androgens also show effects through androgen receptors. In spite of the general belief that testosterone is the male hormone while estrogen and progesterone are the female sex hormones, in reality each sex has a particular balance of several hormones and the male fetal brain seems to be shaped according to a reciprocal interaction between estrogen receptors and androgen receptors. (Gorski, 2000, Karaismailoglu and Erdem, 2013).

The effect of gonadal hormones on brain maturation takes place at two different periods of life known as the classical organisational/activational hypothesis of gonadal steroid action (Phoenix et al., 1959, Alonso and Lopez-Coviella, 1998). During the prenatal period, gonadal steroid hormones organise the developing brain by changing the architecture of several neural substrates which later in puberty are activated by the gonadal steroids surge in a directed manner. According to this classical view, brain architecture is modified in a permanent way by exposure of the male brain to testicular hormones during a brief perinatal period. More recently, this hypothesis has been challenged and the revised view of the period of organization/structural differentiation is extended from the postnatal period through puberty and adolescence in a prolonged postnatal sensitivity to the organizational effects of testicular hormones (Juraska et al., 2013).

3) ORGANIZATIONAL EFFECT ON THE DOPAMINERGIC SYSTEM

An efficient establishment of synaptic circuits during maturation is essential for the development of normal brain function. The majority of excitatory synapses are formed on

dendritic spines and changes in spine density and morphology account for functional differences at the synaptic level (Segal, 2010). The cerebral cortex and the hippocampal formation are essential components of the neural pathways that mediate stress responses and are essential for learning and memory formation (Madeira and Lieberman, 1995). The mesocorticolimbic dopaminergic (DA) system, that comprises neurons from the ventral tegmental area (VTA) projecting mainly to the hippocampus and the prefrontal cortex (Kuhar et al., 1999, Chinta and Andersen, 2005, Baier et al., 2012), regulates diverse behavioural and cognitive functions that are crucial for the integration of individual perception and its adaptation to the environment (Missale et al., 1998).

Androgen organisational influence over mesostriatal and mesolimbic DA system was demonstrated by Creutz and Kritzer (2004). Moreover, Yang and Shieh (2007) suggested that gonadal hormones play a regulatory role in the stimulation of cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide in mesolimbic and nigrostriatal DA system and Johnson et al (2010) demonstrated that testosterone play a suppressive role in midbrain DA pathways. The organisational role of androgens in hippocampus was explored by Zhang and collaborators (2010) who reported that neonatal androgenic surges disruption increased depression-like behaviours in prepubertal male rats as well as reduced the number of MAP2 (microtubule-associated protein type 2), immunopositive neurons in the dentate gyrus and the density of dendritic spines of the pyramidal neurons of the CA1 hippocampal areas.

4) ENDOCRINE DISRUPTORS IN MALE REPRODUCTIVE DEVELOPMENT

According to Weiss (2012) endocrine disruptors (ED) refers to “chemicals agents that interfere with the biological actions of hormones by blocking, mimicking, displacing, or acting through a variety of other mechanisms to subvert their natural roles” and may be divided into natural compounds mostly obtained from our diet and man-made chemicals used in the environment (such as herbicides, pesticides, plasticizers, industrial by-products, etc) (HAMPL et al., 2014) or widely used therapeutic drugs (e.g., steroid hormones, statins, glitazones, fungicides, etc) (Scott et al., 2009). Unlike traditional toxicants that express their effect in the form of tissue pathology, clinical disorders or death, endocrine disruptors may distort or shift the organism’s normal patterns of response to environmental or internal conditions (Weiss, 2012). This shift from the normal pattern of internal conditions is particularly critical when the EDs exposure occurs during the perinatal period. Epidemiological and animal studies suggest that prenatal exposure to EDs such as phthalates and bisphenol A have adverse effects on birth weight, promote development of childhood obesity and adversely affect male reproductive tract development and reproductive disorders (DiVall, 2013). In relation to the male reproductive disorders, there is growing evidence that prenatal exposure to phthalates (Swan et al.,

2005, Zhang et al., 2010) and maternal occupational exposure to BPA (Miao et al., 2011) are associated with shorter anogenital distance in boys. Moreover, prenatal BPA exposure downregulates expression of genes associated with Sertoli cell function and affects the reproductive function of male mice offspring (Tainaka et al., 2012). Exposure of pregnant rhesus monkeys to relatively low levels of BPA during the final 2 months of gestation, induced abnormalities in fetal ventral mesencephalon and hippocampus. Specifically, light microscopy revealed a decrease in tyrosine hydroxylase-expressing neurons in the midbrain of BPA-exposed fetuses and electron microscopy identified a reduction in spine synapses in the CA1 region of hippocampus (Elsworth et al., 2013). For a comprehensive review on the differences in the susceptibility to disruption by exogenous compounds on the steroidogenesis between man and rodent in the fetal testis, please refer to Scott et al.(2009).

The steroidogenic cascade might be impacted negatively on testosterone production by therapeutic and environmental compounds at several points, but impaired testosterone production is not the only reason for failure or incomplete masculinization. It can also occur due to mutations of the androgen receptor (Hughes, 2001); 5 α -reductase type 2 deficiency (Imperato-McGinley and Zhu, 2002) or to antiandrogenic drugs (McLeod, 1993). Antiandrogenic drugs, or androgen-receptor antagonists, represent a group of compounds that have been employed in the treatment of metastatic prostate cancer. Their method of action is basically by inhibiting androgen uptake and/or inhibition of nuclear binding of the androgens in the target tissues and they are classified as steroidal or nonsteroidal compounds. Cyproterone and megestrol are synthetic steroidal antiandrogenic drugs that, not only compete for androgen receptors, but also reduce plasma testosterone. Nonsteroidal antiandrogenic agents such as flutamide and nilutamide block cellular binding of androgens only, and there is no reduction of testosterone levels (McLeod, 1993). In particular, flutamide is a powerful and specific antiandrogen that crosses the placental barrier (Neri et al., 1972) and blocks AR by inhibiting its translocation to the nucleus from the cytoplasm of the target cells. Several groups have studied the effect of the administration of flutamide during the last week of gestation on the male offspring. Casto and collaborators (2003), observed that adult plasma levels of testosterone were not different in flutamide-exposed males and controls, but testicular and epididymal weight, anogenital distance, and penile length were reduced along with reductions in reproductive behaviors. Moreover, Imperato-McGinley et al. (1992) found that flutamide-treated (18 mg/kg.day) animals, Wolffian ductal differentiation occurred, but seminal vesicle weight was decreased, whereas at similar doses, (Goto et al., 2004) found decreased anogenital distance of the male offspring as well as cryptorchidism and absence of the prostate gland and seminal vesicles and changes in sexual behaviour. Similarly, (Okur et al., 2006) concludes that blocking of prenatal androgen with flutamide interferes with testicular development by inhibiting testicular descent, and also effects

testicular morphology and function in both the descended and undescended testes of rats.

In our hands, male offspring of pregnant rats injected with flutamide (10 mg/Kg/day) from days 15-21 of gestation, showed reduced anogenital distance, delay in the completion of testis descent, hypospadias, cryptorchidism and atrophied seminal vesicles. Brain morphological studies revealed that prenatal flutamide decreased the number of MAP2 (present almost exclusively in dendrites) immunoreactive neuronal processes in all evaluated brain areas, both in prepubertal and adult offspring, suggesting that prenatal androgen disruption induces long term reductions of the dendritic arborisation of several brain structures, affecting the normal connectivity between areas. Moreover, the number of tyrosine hydroxylase immunopositive neurons in the VTA of prepubertal offspring was reduced in flutamide rats but reach normal values at adulthood (Pallares et al., 2014).

5) PRENATAL STRESS

During the last years, increasing evidences from rodent models demonstrate that exposure to different stressful events during the last week of gestation strongly impacts on structural and functional foetal central nervous system development, leading to impaired adaptation to stressful conditions, enhanced propensity to self-administer drugs, vulnerability to anxiety and learning deficits (Weinstock, 2001, Huizink et al., 2004, Darnaudery and Maccari, 2008, Weinstock, 2008). In addition, the offspring display anomalies in neuronal development and brain morphology which persist into adulthood (Fride and Weinstock, 1989). Our laboratory has a long standing interest in the effects of prenatal stress on the brain development, especially on the mesocorticolimbic DA pathway (Baier et al., 2012) triggered by the hypothesis that stressful situations suffered prenatally are related to the propensity to develop psychiatric abnormalities in the adult life.

We investigated the effects of prenatal stress on expression of DA and glutamatergic (Glu) receptors using quantitative autoradiography in offsprings of dams subjected to restrain stress during the last week of gestation. DA receptors increased in limbic areas of the adult brain whereas Glu receptors increased both in limbic and motor areas (Berger et al., 2002). Adoption at birth was used to change the postnatal environment and the complex pattern of receptor changes obtained reflects the high vulnerability of DA and Glu systems to variations both in prenatal and in postnatal environment (Barros et al., 2004). Behavioral studies have also been carried out and adult offspring of rats stressed during pregnancy exhibited higher levels of anxiety than control rats. The anxiety levels show direct correlation with benzodiazepine receptors exhibiting a decrease in the number of benzodiazepine receptors binding sites in amygdala and hippocampus (Barros et al., 2006b). We also performed morphological studies to evaluate astrocytes and dendritic arborization in frontal cortex, striatum and hippocampus of the prenatally stressed adult rat brain. These results demonstrate that prenatal stress induces a

long-lasting astroglial reaction and a reduced dendritic arborization with synaptic loss in the brain of adult offspring (Barros et al., 2006a). Specific dopaminergic transcription factors (Nurr1 and PITX3) were found to be altered in PS offspring along with the expression of TH. (Katunar et al., 2009, Katunar et al., 2010). Amphetamine or nicotine stimulation produces an increase in DA levels in NAc-S of adult PS male rats (Silvagni et al., 2008) and a decreased DA release after amphetamine stimulation in PFC of adult offspring (Carboni et al., 2010), suggesting that this cortical dopaminergic deficit might be triggering a NAc hyperfunction and an overall dopaminergic imbalance in the prenatally stressed brain.

We have demonstrated that several impairments induced by prenatal stress on the DA metabolism were differentially affected if assayed before or after puberty. This observation confirms the suggestion from previous investigations that perinatal events might render the DA circuitry more vulnerable to puberty variation of the hormonal circulating levels (Diaz et al., 1997). However, the reduction in dendritic arborisations induced by prenatal stress in PFC and HPC, that were reported to occur at adult stages (Barros et al., 2006b), were also found prepubertally (Pallares et al., 2013a), suggesting that some plastic morphological processes might be programmed prenatally but are relatively insensitive to the increase of sexual hormones during puberty.

However, the occurrence of some factors during this perinatal phase can interfere with the physiological, morphological, behavioural, and neuroanatomical differences between males and females (Scott et al., 2009). For example, it was reported that prenatal stress suppresses the surge of prenatal testosterone, affecting the male reproductive tract formation, inducing abnormal testosterone levels and feminising the male sexual behaviour (Shono and Suita, 2003, Barros et al., 2004, Gerardin et al., 2005). In our hands, we have shown that prenatal stress induced long-term imbalance of male sexual hormones concentrations in serum, advanced the spermatogenesis development and exerted an age-dependent misbalance on oestrogen alpha receptor expression on PFC and HPC brain areas (Pallares et al., 2013a, Pallares et al., 2013b). Moreover, it was observed that physiological and behavioural damage caused by prenatal stress were prevented by replacement with neonatal testosterone (Pereira et al., 2006), corroborating the importance of neonatal testosterone surge during the sexual differentiation process of the brain.

The striking similarities among the results obtained between the prenatal stress paradigm and prenatal flutamide exposure prompt us to suggest that prenatal administration of flutamide might impair sexual maturation as well as brain morphology development in the prepubertal and adult offspring in a similar manner to the exposure of stress during late gestation that was previously reported by our group. In this regards, we suggested that the mechanism of action of prenatal stress might be related to the impairment of the organisational role of androgens on brain development.

6) CONCLUDING REMARKS

The process by which the sexually indifferent foetus with a testis attains differentiated testes that secrete hormones and is transformed into a phenotypic male is called *masculinisation*. As much as the genitalia, the regions of the brain directly involved with reproduction undergoes hormone-dependent sexual differentiation, a process known as *masculinisation of the brain* which in rodents occurs perinatally.

The effect of gonadal hormones on brain maturation takes place at two different periods of life known as the classical *organisational/activational hypothesis of gonadal steroid action*. The direction of adult hormonal responsiveness will dictate sex-specific behaviour and physiology, and in particular, the mesocorticolimbic DA system regulates diverse behavioural and cognitive functions that are crucial for the integration of individual perception and its adaptation to the environment. It has been widely demonstrated that androgens have an organisational influence over mesostriatal and mesolimbic DA system as well as in the hippocampus.

ED may distort or shift the organism normal patterns of response to environmental or internal conditions, that if it temporally occurs during the prenatal period, adverse outcomes were observed such as: reduction on birth weight, childhood obesity, shorter anogenital distance in boys, and alterations in the reproductive function of male mice offspring. At the central nervous system level, abnormalities in foetal ventral mesencephalon and hippocampus such as a decrease in tyrosine hydroxylase-expressing neurons in the midbrain and a reduction in spine synapses in the CA1 region of hippocampus were reported. The exposure of pregnant dams to the nonsteroidal ED flutamide shows reductions in testicular and epididymal weight, anogenital distance, and penile length along with reductions in reproductive behaviours of the male offspring. Moreover, seminal vesicle weight and anogenital distance were decreased, as well as cryptorchidism and absence of the prostate gland and seminal vesicles. Testicular descent was inhibited along with affected testicular morphology and function in both the descended and undescended testes of rats. In our hands, male offspring of pregnant rats injected with flutamide showed reduced anogenital distance, delay in the completion of testis descent, hypospadias, cryptorchidism and atrophied seminal vesicles. Brain morphological studies revealed that prenatal flutamide induced reductions of the dendritic arborisation of several brain structures, and reductions in the number of tyrosine hydroxylase immunopositive neurons in the VTA of prepubertal offspring.

The striking similarity of these results with those obtained in the male offspring when the mother was stressed during the last week of gestation, prompted us to suggest that a possible mechanism by which PS exerts its effects on the offspring development might be similar to the antiandrogenic

mechanism exert by flutamide, therefore impairing the organisational role of androgens on brain development.

ACKNOWLEDGMENTS:

The skillful assistance and bibliographical management of Mrs Susana Buglione is greatly appreciated. This research was supported by grants from CONICET (PIP 2065) and ANPCYT (PICT 31981 and PICT 0040) to MCA. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES:

- Alonso R, Lopez-Coviella I (Gonadal steroids and neuronal function. *Neurochem Res* 23:675-688.1998).
- Arnold AP, Gorski RA (Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 7:413-442.1984).
- Baier CJ, Katunar MR, Adrover E, Pallares ME, Antonelli MC (Gestational Restraint Stress and the Developing Dopaminergic System: An Overview. *Neurotox Res.*2012).
- Barros VG, Berger MA, Martijena ID, Sarchi MI, Perez AA, Molina VA, Tarazi FI, Antonelli MC (Early adoption modifies the effects of prenatal stress on dopamine and glutamate receptors in adult rat brain. *J Neurosci Res* 76:488-496.2004).
- Barros VG, Duhalde-Vega M, Caltana L, Brusco A, Antonelli MC (Astrocyte-neuron vulnerability to prenatal stress in the adult rat brain. *J Neurosci Res* 83:787-800.2006a).
- Barros VG, Rodriguez P, Martijena ID, Perez A, Molina VA, Antonelli MC (Prenatal stress and early adoption effects on benzodiazepine receptors and anxiogenic behavior in the adult rat brain. *Synapse* 60:609-618.2006b).
- Berger MA, Barros VG, Sarchi MI, Tarazi FI, Antonelli MC (Long-term effects of prenatal stress on dopamine and glutamate receptors in adult rat brain. *Neurochem Res* 27:1525-1533.2002).
- Brennan J, Capel B (One tissue, two fates: molecular genetic events that underlie testis versus ovary development. *Nat Rev Genet* 5:509-521.2004).
- Carboni E, Barros VG, Ibba M, Silvagni A, Mura C, Antonelli MC (Prenatal restraint stress: an in vivo microdialysis study on catecholamine release in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 168:156-166.2010).
- Casto JM, Ward OB, Bartke A (Play, copulation, anatomy, and testosterone in gonadally intact male rats prenatally exposed to flutamide. *Physiol Behav* 79:633-641.2003).
- Creutz LM, Kritzer MF (Mesostriatal and mesolimbic projections of midbrain neurons immunoreactive for estrogen receptor beta or androgen receptors in rats. *J Comp Neurol* 476:348-362.2004).
- Chinta SJ, Andersen JK (Dopaminergic neurons. *Int J Biochem Cell Biol* 37:942-946.2005).
- Darnaudey M, Maccari S (Epigenetic programming of the stress response in male and female rats by prenatal restraint stress. *Brain Res Rev* 57:571-585.2008).
- Diaz R, Fuxe K, Ogren SO (Prenatal corticosterone treatment induces long-term changes in spontaneous and apomorphine-mediated motor activity in male and female rats. *Neuroscience* 81:129-140.1997).
- DiVall SA (The influence of endocrine disruptors on growth and development of children. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 20:50-55.2013).
- Elsworth JD, Jentsch JD, Vandervoort CA, Roth RH, Jr DE, Leranath C (Prenatal exposure to bisphenol A impacts midbrain dopamine neurons and hippocampal spine synapses in non-human primates. *Neurotoxicology* 35:113-120.2013).
- Fride E, Weinstock M (Alterations in behavioral and striatal dopamine asymmetries induced by prenatal stress. *Pharmacol Biochem Behav* 32:425-430.1989).
- Gerardin DC, Pereira OC, Kempinas WG, Florio JC, Moreira EG, Bernardi MM (Sexual behavior, neuroendocrine, and neurochemical aspects in male rats exposed prenatally to stress. *Physiol Behav* 84:97-104.2005).
- Gorski R (2000) Sexual differentiation of the nervous system. In: *Principles of Neural Science*(Hill, M. G., ed), pp 1131-1148 New York.
- Goto K, Koizumi K, Takaori H, Fujii Y, Furuyama Y, Saika O, Suzuki H, Saito K, Suzuki K (Effects of flutamide on sex maturation and behavior of offspring born to female rats treated during late pregnancy. *J Toxicol Sci* 29:517-534.2004).
- Hampfl R, Kubatova J, Starka L (Steroids and endocrine disruptors-History, recent state of art and open questions. *J Steroid Biochem Mol Biol.*2014).
- Hughes IA (Minireview: sex differentiation. *Endocrinology* 142:3281-3287.2001).
- Huizink AC, Mulder EJ, Buitelaar JK (Prenatal stress and risk for psychopathology: specific effects or induction of general susceptibility? *Psychol Bull* 130:115-142.2004).
- Imperato-McGinley J, Sanchez RS, Spencer JR, Yee B, Vaughan ED (Comparison of the effects of the 5 alpha-reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differentiation: dose-response studies. *Endocrinology* 131:1149-1156.1992).
- Imperato-McGinley J, Zhu YS (Androgens and male physiology the syndrome of 5alpha-reductase-2 deficiency. *Mol Cell Endocrinol* 198:51-59.2002).
- Johnson ML, Day AE, Ho CC, Walker QD, Francis R, Kuhn CM (Androgen decreases dopamine neuron survival in rat midbrain. *J Neuroendocrinol* 22:238-247.2010).
- Juraska JM, Sisk CL, DonCarlos LL (Sexual differentiation of the adolescent rodent brain: hormonal influences and developmental mechanisms. *Horm Behav* 64:203-210.2013).
- Karaismailoglu S, Erdem A (The effects of prenatal sex steroid hormones on sexual differentiation of the brain. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 14:163-167.2013).
- Katunar M, Saez T, Brusco A, Antonelli M (Immunocytochemical expression of dopamine-related transcription factors Pitx3 and Nurr1 in prenatally stressed adult rats. *Journal of Neuroscience Research* 87:1014-1022.2009).
- Katunar M, Saez T, Brusco A, Antonelli M (Ontogenetic Expression of dopamine-Related Transcription Factors and Tyrosine Hydroxylase in Prenatally Stressed Rats. *Neurotoxicity Research* 18:69-81.2010).
- Kuhar MJ, Couceyro PR, Lambert PD (1999) Catecholamines. In: *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects.* (Siegel, G. J., Agranoff, B.W, Albers, R.W, Fisher, S.K, Uhler, M.D. Uhler eds., ed) Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Madeira MD, Lieberman AR (Sexual dimorphism in the mammalian limbic system. *Prog Neurobiol* 45:275-333.1995).
- McCarthy MM, Konkle AT (When is a sex difference not a sex difference? *Front Neuroendocrinol* 26:85-102.2005).
- McLeod DG (Antiandrogenic drugs. *Cancer* 71:1046-1049.1993).
- Miao M, Yuan W, He Y, Zhou Z, Wang J, Gao E, Li G, Li DK (In utero exposure to bisphenol-A and anogenital distance of male offspring. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 91:867-872.2011).
- Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG (Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78:189-225.1998).

- Neri R, Florance K, Koziol P, Van Cleave S (A biological profile of a nonsteroidal antiandrogen, SCH 13521 (4'-nitro-3'-trifluoromethylisobutyranilide). *Endocrinology* 91:427-437.1972).
- Okur H, Muhtaroglu S, Bozkurt A, Kontas O, Kucukaydin N, Kucukaydin M (Effects of prenatal flutamide on testicular development, androgen production and fertility in rats. *Urol Int* 76:130-133.2006).
- Pallares ME, Adrover E, Baier CJ, Bourguignon NS, Monteleone MC, Brocco MA, Gonzalez-Calvar SI, Antonelli MC (Prenatal maternal restraint stress exposure alters the reproductive hormone profile and testis development of the rat male offspring. *Stress* 16:429-440.2013a).
- Pallares ME, Adrover E, Imsen M, Gonzalez D, Fabre B, Mesch V, Baier CJ, Antonelli MC (Maternal administration of flutamide during late gestation affects the brain and reproductive organs development in the rat male offspring. *Neuroscience* 278C:122-135.2014).
- Pallares ME, Baier CJ, Adrover E, Monteleone MC, Brocco MA, Antonelli MC (Age-dependent effects of prenatal stress on the corticolimbic dopaminergic system development in the rat male offspring. *Neurochem Res* 38:2323-2335.2013b).
- Pereira OC, Bernardi MM, Gerardin DC (Could neonatal testosterone replacement prevent alterations induced by prenatal stress in male rats? *Life Sci* 78:2767-2771.2006).
- Phoenix CH, Goy RW, Gerall AA, Young WC (Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology* 65:369-382.1959).
- Polanco JC, Koopman P (Sry and the hesitant beginnings of male development. *Dev Biol* 302:13-24.2007).
- Scott HM, Mason JI, Sharpe RM (Steroidogenesis in the fetal testis and its susceptibility to disruption by exogenous compounds. *Endocr Rev* 30:883-925.2009).
- Segal M (Dendritic spines, synaptic plasticity and neuronal survival: activity shapes dendritic spines to enhance neuronal viability. *Eur J Neurosci* 31:2178-2184.2010).
- Shono T, Suita S (Disturbed pituitary-testicular axis inhibits testicular descent in the prenatal rat. *BJU Int* 92:641-643.2003).
- Silvagni A, Barros V, Mura M, Antonelli M, Carboni E (Prenatal restraint stress differentially modifies basal and stimulated dopamine and noradrenaline release in the rat nucleus accumbens shell: an "in vivo" microdialysis study. *Eur J of Neuroscience* En prensa.2008).
- Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, Mao CS, Redmon JB, Ternerand CL, Sullivan S, Teague JL (Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect* 113:1056-1061.2005).
- Tainaka H, Takahashi H, Umezawa M, Tanaka H, Nishimune Y, Oshio S, Takeda K (Evaluation of the testicular toxicity of prenatal exposure to bisphenol A based on microarray analysis combined with MeSH annotation. *J Toxicol Sci* 37:539-548.2012).
- Weinstock M (Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. *Prog Neurobiol* 65:427-451.2001).
- Weinstock M (The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 32:1073-1086.2008).
- Weiss B (The intersection of neurotoxicology and endocrine disruption. *Neurotoxicology* 33:1410-1419.2012).
- Yang SC, Shieh KR (Gonadal hormones-mediated effects on the stimulation of dopamine turnover in mesolimbic and nigrostriatal systems by cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide in male rats. *Neuropharmacology* 53:801-809.2007).
- Zhang JM, Tonelli L, Regenold WT, McCarthy MM (Effects of neonatal flutamide treatment on hippocampal neurogenesis and synaptogenesis correlate with depression-like behaviors in preadolescent male rats. *Neuroscience* 169:544-554.2010).

RESUMEN

Los eventos de vida tempranos producen un impacto de largo alcance sobre la función y la estructura de los tejidos. En la actualidad se acepta que existe una asociación entre el desafío ambiental durante la gestación y la patofisiología posterior, concepto que se ha denominado "programación del desarrollo". La adversidad ambiental actúa sobre tejidos específicos del feto durante períodos sensibles que cambian trayectorias del desarrollo y consecuentemente su organización y función. Durante el período prenatal, las hormonas esteroideas gonadales (estrógenos y andrógenos) organizan el cerebro en desarrollo cambiando la arquitectura de varios sustratos neurales que luego en la pubertad son activados por los esteroides gonadales en forma directa. Los interruptores endocrinos (IE) pueden distorsionar o correr los patrones normales de respuesta a las condiciones internas o ambientales. Se ha observado que si los mismos se encuentran presentes durante el período gestacional se producen alteraciones severas en la función y la morfología de la cría. En este trabajo de revisión, resumiremos la bibliografía existente sobre la exposición a IE durante la gestación así como la influencia sobre el desarrollo de la cría macho. Por otra parte, discutiremos el efecto del IE no-esteroideo Flutamida en vista de las similitudes detectadas con los efectos del estrés prenatal observado en crías macho.

Palabras Claves: Programación del desarrollo, hormonas esteroideas gonadales, sistema dopaminérgico, receptores androgénicos, estrés prenatal, flutamida, gestación, rata.

SUPLEMENTO XXXVI CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD DE FARMACOLOGÍA DE CHILE

Rafael Burgos Aguilera, V.M.D., MSc.
Presidente de la Sociedad de Farmacología de Chile

Estimados Socios

A nombre de la Directiva de la Sociedad de Farmacología de Chile, les doy la bienvenida a nuestro XXXVI Congreso Anual, que en esta oportunidad se desarrolla en el Gran Hotel Termas de Chillán. El programa considera conferencias y simposios, además de presentaciones orales, que permitirá a un número importante de jóvenes científicos postular a su incorporación como socios, así también al premio Prof. Dr. Jorge Mardones Restat al mejor trabajo de investigación en Farmacología para un estudiante de postgrado.

A su vez, una gran cantidad de trabajos serán expuestos en modalidad póster y sus resúmenes estarán disponibles en una edición especial de nuestra revista. Este año además la Revista de la Sociedad de Farmacología se incorporó a la base de datos referencial LATINDEX, primer paso para brindar mayor visibilidad a los trabajos que son publicados en nuestra área, y que es fruto del esfuerzo realizado por el editor de la Revista el Dr. Ramón Sotomayor-Zárate.

Como es tradicional contamos con el patrocinio de diversas empresas, como Andes Import, Sigma Aldrich, Fermelo Biotec, Reichmann y Cia Ltda., BD Bioscience, Valquim, LAB-TEC, LONCOTEC y CIENTEC, a los cuales agradecemos sinceramente por la confianza que año a año nos brindan en el desarrollo de nuestro congreso anual.

En la organización de nuestro Congreso quisiera agradecer a la Dra. Carolina Gómez-Gaete y a la Universidad de Concepción, por toda su valiosa ayuda en la organización de este evento científico.

Finalmente, espero que este congreso pueda ser una oportunidad para conocer los nuevos avances científicos realizados en Chile y el extranjero, desde un lugar de gran belleza natural y tradición turística.

Dr. Rafael Burgos A.
Presidente SOFARCHI

CONFERENCIAS

FARMACOLOGÍA DEL ATP EXTRACELULAR: ASPECTOS CELULARES Y MOLECULARES DE LA REGULACIÓN ALOSTÉRICA DE LOS RECEPTORES P2X (Pharmacology of extracellular ATP, cellular and molecular aspects of P2X Receptor allosteric regulation).

Huidobro-Toro, J.P.¹, Alveal, N.², Navarrete, C.² y Barrera, N.P.²

¹Laboratorio de Farmacología de Nucleótidos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile, y ²Laboratorio de Proteínas de Membrana, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile (juan.garcia-huidobro@usach.cl).

ATP (adenosina 5'-trifosfato) cumple múltiples roles intracelulares e intranuclear. Además, este nucleótido es un mensajero extracelular primitivo, versátil y que señala intracelularmente con múltiples receptores (P2Y y P2X); los P2Y son activados por ADP/ATP o UDP/UTP, se acoplan a proteínas G las que activan cascadas metabólicas. Existen 7 clones P2X, los que se caracterizan porque son canales iónicos Na⁺/Ca⁺⁺; se activan exclusivamente por nucleótidos de adenosina trifosfato o análogos estructurales. Los receptores P2X funcionales son trómeros homo o heteroméricos que se expresan en diversos tipos celulares como neuronas, músculos lisos, plaquetas, epitelios y endotelio, etc donde cumplen roles fisiológicos y fisiopatológicos cada vez mejor reconocidos. Estos receptores se modulan alostéricamente por diversos metales traza y drogas, incluyendo neuroesteroides, lo que constituye un nuevo mecanismo de regulación de la funcionalidad de estos receptores. Utilizando mutagénesis sitio-dirigida hemos identificado los sitios de la regulación alostérica para metales traza como cobre y zinc, y además, de drogas como ivermectina, y varios neurosteroides que actúan como reguladores alostéricos positivos y negativos. Usando modelamiento bio-informáticos basado en la estructura del cristal de parte del receptor P2X4 de rata, hemos identificado los sitios de unión y el mecanismo molecular de dichas interacciones. Además, concentraciones mayores de esteroides gatillan corrientes en ausencia de ATP, revelando apertura del canal. Utilizando métodos bio-informáticos y dinámicas moleculares de hasta 160 nanosegundos se mostrarán modelos que permiten inferir como alfaxolona, un neuroesteroide modulador positivo del P2X4, pero no el receptor P2X2, abre con especificidad el poro del canal P2X4 causando despolarizaciones.

Agradecimientos: Proyecto P-10 035F, de la ICM, Núcleo de Biología de Membrana NuBEs, y proyecto FONDECYT 1141132.

MEDICINES THAT SPEAK THE ELECTRICAL LANGUAGE OF THE BODY

Sridhar, A.

Disease Biology Director, GSK Bioelectronics R&D, UK.

Electrical impulses are a universal control 'language' in biology. Recent scientific and engineering advances increasingly allow for use of such impulses to affect specific cells, modulate their 'neural code' and control organs and biological function. Micro and nano devices that detect and analyse biological signals and then modulate the code with tailored electrical impulses promise to be a novel, high-precision paradigm for treatment of many of society's most pressing ailments: hypertension, diabetes, obesity, heart failure, pulmonary and inflammatory disease; even cancer.

We at GSK believe that in 1-2 decades bioelectronic medicines could be a major source of medical interventions on par with today's pharmaceuticals and vaccines. The Bioelectronics R&D unit is tasked with enabling and accelerating the advent of bioelectronic medicines, be a leading integrator in the field, and become an emerging innovation leg for GSK. GSK's research ambition is to develop implantable micro-devices (bioelectronic medicines) that can be attached to individual nerves in the periphery, close to the end organ of interest where they will read and write the electronic signalling patterns that pass through the nerve and be smart enough to correct these giving therapeutic benefits. A bioelectronics medicines vision (Nature. 2013 Apr 11; 496(7444):159-61) and a research roadmap for bioelectronic medicines (Nat Rev Drug Discov. 2014 Jun; 13(6):399-400) highlights its inter-disciplinary effort needed to develop these medicines. There has also been substantial research funding from USA's NIH and DARPA organizations. The talk will cover the rationale, potential for treatment and efforts taken by GSK in this area.

DOPAMINE AND REWARD: THE END OF A NEVER ENDING STORY?

Di Chiara, G.

Department of Biomedical Sciences, University of Cagliari, Cagliari, Italy

Among brain transmitters dopamine (DA) is probably the one more directly involved in the action of psychoactive drugs. A common denominator of such a widespread involvement has been hypothesized, since Wise anhedonia hypothesis, to be a role of dopamine in reward. This hypothesis, however, has been hotly debated and alternative hypotheses have been proposed. We have hypothesized that reward can be parsed into two kinds depending on the phase, preparatory or consummatory, of motivated behavior. Our studies point to a role of accumbens shell DA in state hedonia, the arousal state induced by stimuli predictive of consummatory reward (incentive stimuli). This state is induced by psychostimulants and by all drugs of abuse, including depressant ones that have in common the ability to activate DA transmission in the shell. This pattern in turn is mimicked by incentive stimuli predicting feeding of sucrose pellets. Thus, drugs of abuse mimic the shell DA activating properties of incentive stimuli. Recent optogenetic studies are consistent with this hypothesis.

20 AÑOS DE ANFETAMINAS Y MONOAMINO OXIDASAS: DESDE EL DISEÑO A LA SIMULACIÓN MOLECULAR (20 years of amphetamines and monoamine oxidases: from the design to the molecular simulation).

Reyes-Parada, M.

Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile (miguel.reyes@usach.cl).

La molécula de anfetamina ha sido señalada como la “cenicienta de la química medicinal”, ya que modificaciones relativamente simples en su estructura han llevado a la generación de una plétora de compuestos con acciones farmacológicas tan diversas como psicoestimulantes, alucinógenos, antiparkinsonianos o anoréxigenos.

En este contexto, el presente trabajo resume resultados obtenidos desde comienzos de la década de los 90 hasta el presente, en relación a los efectos de múltiples derivados de anfetamina sobre la actividad enzimática de monoamino oxidasas. Así, se analizan diversos momentos de este trabajo, desde el diseño de moléculas en servilletas de papel en los alrededores de las facultades de Ciencias y Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la U. de Chile hasta modernas aproximaciones experimentales y computacionales utilizadas en Estados Unidos, Uruguay y Europa. Como es de suponer, se concluye con más preguntas que respuestas y con nuevas posibilidades de acciones para derivados de esta versátil molécula.

Agradecimientos: Se agradece a múltiples amigos y colegas por estos 20 años. Financiado por proyectos DICYT-USACH y FONDECYT 1000776, 1060199, 1090037 y 1130185

SIMPOSIO 1: "AVANCES EN FARMACOLOGÍA DE TRASTORNOS COGNITIVOS"

EFFECTOS NEUROPROTECTORES DE PLANTAS MEDICINALES SOBRE LOS TRASTORNOS COGNITIVOS INDUCIDOS POR EL ESTRÉS (Neuroprotective effects of herbal medicines on the cognitive impairments induced by stress).

Díaz-Véliz, G.

Programa Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (gdiaz@med.uchile.cl).

Los trastornos cognitivos pueden estar asociados con traumas cerebrales, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades psiquiátricas o con el envejecimiento. Existen evidencias que la medicina basada en el uso de plantas puede contribuir a mejorar las funciones cerebrales incluyendo la capacidad de aprendizaje y memoria. Un ejemplo lo encontramos en el extracto de *Morinda citrifolia* (Noni) que tiene un efecto protector frente a las alteraciones de la memoria inducidas por escopolamina.

Entre los efectos deletéreos más importantes del estrés prolongado está el deterioro cognitivo acompañado de daño neuronal y reorganización de estructuras cerebrales relacionadas con la cognición. La respuesta a un estímulo estresante gatilla la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) y cuando la respuesta fisiológica a ese estímulo excede los mecanismos adaptativos se manifiestan activación simpática, alteraciones somáticas como úlceras gástricas, aumento de conductas relacionadas con ansiedad y depresión, junto con alteraciones cognitivas. En ese contexto, extractos de diversas plantas, utilizadas tradicionalmente como "calmantes", también producen mejoría del deterioro cognitivo. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto de la desesperanza aprendida sobre el aprendizaje de una respuesta condicionada y los efectos protectores de tres extractos de plantas (*Crataegus mexicana*, *Casimiroa edulis* y *Aloysia polystachia*), sobre el deterioro cognitivo producido por el estrés. Además, hemos demostrado que estas plantas poseen propiedades ansiolíticas y antidepressivas en modelos animales. Considerando que, en la actualidad, el estrés ha llegado a ser un factor inseparable de nuestra vida diaria, una prevención segura y efectiva contra su impacto negativo aparece como una prioridad.

AVANCES EN LA FARMACOLOGÍA DE LOS TRASTORNOS COGNITIVOS.

Slachevsky, A.

Programa de Fisiopatología y de Ciencias Neurológicas Orientadas, Facultad de Medicina & Centro Avanzado de Investigación en Educación (CIAE), Universidad de Chile. Unidad de Neurología Cognitiva y Demencia Servicio de Neurología Hospital del Salvador.

En los últimos años, se ha incrementado el uso de psicofármacos para optimizar el funcionamiento cognitivo en pacientes con enfermedades neuropsiquiátricas, tales como la enfermedad de Alzheimer, la esquizofrenia, el trastorno de hiperactividad por déficit de atención o el traumatismo encefalocraneano. Estos fármacos están siendo utilizados cada vez con mayor frecuencia en sujetos sanos. En esta conferencia, revisaremos brevemente los principales fármacos disponibles en la actualidad (metilfenidato, modafinilo e inhibidores de la acetilcolina) y los fármacos en investigación (ampakine). Discutiremos los mecanismos que explican la variabilidad de respuesta a estos fármacos en sujetos sanos. Finalmente discutiremos brevemente los tres problemas éticos fundamentales asociados a su uso en sujetos sanos: i) razones de salud; ii) las consecuencias sociales de estas moléculas y iii) razones de índole filosófica.

Agradecimientos: Fondecyt 1140423 & FB0003 del Programa de Investigación Asociativa de CONICYT.

BUSQUEDA DE POTENCIADORES COGNITIVOS EN INDIVIDUOS SANOS (Searching cognitive enhancers in healthy individuals).

Mora, S.

Programa de Farmacología Molecular y Clínica (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile (smora@med.uchile.cl).

El término potenciación cognitiva se refiere al aumento de la capacidad cerebral en los dominios cognitivos de atención, memoria y creatividad, mediante el uso de fármacos. El notable desarrollo de las neurociencias y la psicofarmacología en los últimos años ha llevado al desarrollo de fármacos potencialmente útiles en el tratamiento de los trastornos cognitivos propios de enfermedades como el Alzheimer, el Parkinson o la esquizofrenia. A pesar de que los resultados en este campo han sido modestos, ha surgido una tendencia nueva que es el uso de potenciadores cognitivos en individuos sanos. Los estudios experimentales y clínicos han demostrado efectos significativos, aunque relativamente modestos, en el aumento de funciones cognitivas, tales como la atención y la memoria.

Hay una cantidad de fármacos que tienen la propiedad de aumentar las capacidades mentales que han sido estudiados y validados en modelos animales y que han recibido el nombre de "drogas inteligentes", asimismo la industria farmacéutica ha ido focalizando cada vez más su investigación en este campo. Los candidatos a potenciadores cognitivos se pueden clasificar de acuerdo a sus efectos psicológicos o neurobiológicos. Metilfenidato y modafinilo actúan sobre procesos psicológicos (atención y memoria) pero hay pocas evidencias de que mejoren todo el complejo procesamiento cognitivo. Otro grupo de potenciadores cognitivos incluye agentes que favorecen la codificación y consolidación de la memoria actuando sobre sitios relacionados con la potenciación a largo plazo (LTP), activando receptores nicotínicos que regulan la liberación de glutamato o regulando alostéricamente la respuesta de receptores glutamatérgicos a nivel postsináptico (ampakinas).

SIMPOSIO 2: "SEÑALIZACIÓN PURINÉRGICA EN SALUD Y ENFERMEDAD"

ATP, UN NUCLEÓTIDO EXTRACELULAR FISIOLÓGICAMENTE RELEVANTE, A VEINTE AÑOS DE LA CLONACIÓN DE SUS RECEPTORES DE MEMBRANA PLASMÁTICA (ATP a physiological relevant extracellular nucleotide, twenty years after the cloning of its first receptors).

Huidobro-Toro, J.P.

Laboratorio de Farmacología de Nucleótidos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile) (juan.garcia-huidobro@usach.cl).

Diversos hitos en la historia de la Fisiología y Farmacología demostraron en los últimos 80 años que nucleótidos como ATP y UTP tiene un rol fisiológico en comunicación intercelular. El primero en demostrar que derivados de adenina modifican la actividad del corazón fue Drury y Szent Gyorgi (1929). Años después, Holton (1959) observó que ATP se secreta de nervios sensoriales periféricos. G. Burnstock y cols. publican en 1970 que ATP es un transmisor inhibitorio de nervios inhibitorios no-adrenérgicos, dicha publicación fue precedida dos años después por la atrevida hipótesis que propuso nervios purinérgicos; se diseña la posible anatomía de dichas terminales nerviosas (Burnstock, 1972). A pesar de la fuerte resistencia a la idea propuesta por que el ATP y otros nucleótidos son señales extracelulares, evidencias se acumulan en favor de esta hipótesis. La publicación en Nature (1994) de dos trabajos secuenciales, mostrando la estructura primaria de la subunidad de los receptores P2X1 y P2X2 por dos grupos independientes de investigadores, le dio un fuerte respaldo a la hipótesis purinérgica. Además en 1993, se publicó el clonamiento del primer receptor P2Y de embrión de pollo. El conjunto de estas evidencias unidas a la explosión de publicaciones sobre los nucleótidos extracelulares, sus mas de 15 receptores, las ectoATPasas y recientemente el transportador vesicular de ATP han consolidado esta hipótesis. La introducción a la clínica de antagonistas del receptor P2Y12 de acción antiagregante plaquetaria, el uso de agonistas P2Y2 en el tratamiento de fibrosis cística y en fisiología ocular, demuestra la fecundidad de estas ideas.

Agradecimientos: Proyecto P-10 035F, de la ICM, Núcleo de Biología de Membrana NuBEs, y proyecto FONDECYT 1141132.

NUCLEÓTIDOS EXTRACELULARES: MOLÉCULAS CLAVES EN LA REMODELACIÓN DEL SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO (Extracellular nucleotides: key molecules for musculoskeletal system remodeling).

Buvinic, S.

Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile (sbuvinic@u.uchile.cl).

La regulación de la expresión génica es un evento crucial para el músculo esquelético, que determina su homeostasis y plasticidad en respuesta a las demandas ambientales. En los últimos años hemos estudiado cómo el músculo esquelético decodifica los cambios en el potencial de membrana y los transforma en señalización que regula la expresión de genes. Hemos demostrado que los nucleótidos extracelulares son moléculas intermediarias relevantes en este proceso. La despolarización de la membrana muscular promueve la liberación de ATP a través de canales de Panexina 1. El ATP y sus metabolitos activan receptores P2Y y promueven cambios en la expresión génica. Las moléculas participantes de este proceso (sensor de voltaje, panexina 1, receptores P2Y, moléculas de señalización) ensamblan un complejo multiproteico para regular finamente su actividad. Actualmente estamos estudiando los mecanismos de conversación cruzada entre el músculo y el hueso. Históricamente se ha pensado que ambas estructuras se comunican únicamente por procesos mecánicos. Sin embargo, actualmente ha surgido la idea de una comunicación bioquímica. Dado que los nucleótidos extracelulares son reconocidos reguladores de músculo y de hueso, postulamos que serían moléculas relevantes para la señalización en el sistema musculoesquelético. Particularmente, estamos

interesados en la acción de los nucleótidos como moduladores del sistema musculoesquelético en el sistema masticatorio. Hemos demostrado que tanto músculos como huesos participantes en la masticación expresan receptores P2X/P2Y y responden a nucleótidos extracelulares. Conocer los mecanismos moleculares involucrados en la comunicación músculo-hueso en el sistema masticatorio es fundamental para comprender y proponer tratamientos a múltiples trastornos temporomandibulares.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt 11100454 – 1110467; ACT-1111.

LIBERACIÓN DE ATP DE CELULAS ENDOTELIALES, PARTICIPACIÓN DE PANEXINAS (ATP release from endothelial cells, pannexin channels participation).

Donoso, M.V.; Huidobro-Toro, J.P.

Laboratorio de Nucleótidos, Laboratorio de Farmacología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, CHILE (donoso.veronica@gmail.com).

En el control de la presión arterial participan una serie de mediadores vaso-activos, parte de los cuales son de origen endotelial y se secretan por efecto del flujo sanguíneo (estrés de roce). Uno de estos mediadores es ATP; el mecanismo por el cual se libera este nucleótido no está dilucidado. Para determinar posibles vías de secreción, se realizaron estudios en cultivo de células endoteliales aisladas del mesenterio de rata. Para simular el efecto del estrés de roce, las células se estimulan mecánicamente agitando suavemente el medio de cultivo. Los nucleótidos liberados al medio extracelular se modifican a sus eteno derivados que se separan por HPLC y cuantifican por fluorescencia. La agitación mecánica aumenta el ATP basal del medio extracelular 4.1 veces (n=16), alcanzando su máximo 1 minuto después del estímulo, decayendo a los 10 minutos al valor basal. Inhibidores de panexina como 20 μ M carbexolona, 5 μ M ácido 18- β -glicirretínico y 100 μ M probenecid, no modifican la liberación basal. Sin embargo, estas drogas reducen el ATP secretado por estímulo mecánico en 48.4 % (n=21); 74.4% (n=6) y 76.7% (n=7) del control, respectivamente. Al reducir el colesterol de la membrana con 2.5 mM metil- β -ciclodextrina aumentó 4 veces tanto la secreción basal de ATP como la liberación por estímulo mecánico (n=12). Se concluye que panexinas median en parte la liberación de ATP desde las células endoteliales, al ser estimuladas por estímulo mecánico. Aumento de la fluidez de la membrana por reducción del colesterol causa disrupción de caveolas, con la subsecuente apertura de panexinas.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1141132

MODULACIÓN DEL RECEPTOR P2X2 POR FOSFORILACION Y DEFOSFORILACIÓN (Modulation of the P2X2 receptor by phosphorylation/dephosphorylation).

Coddou, C.^{1,2}; Rivas, P.¹, Utreras, E.³, Rokic, M.², Stokilovic, S.S.²

¹Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. ²Section on Cellular Signaling, NICHD, NIH, Bethesda, MD, USA. ³Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile (ccoddou@ucn.cl).

P2X2 es un miembro de la familia de receptores ionotrópicos activados por ATP extracelular (P2X) y se encuentra expresado en numerosos tejidos incluyendo neuronas del ganglio de la raíz dorsal en las que participa junto al receptor P2X3 en la transmisión aferente del dolor. Existen distintas variantes de *splicing* de este receptor, las que presentan dominios C-terminales de longitud variable las que le confieren distintas propiedades de desensibilización. Por ejemplo la variante P2X2a presenta una desensibilización más lenta que la variante P2X2b lo que coincide un dominio C-terminal más corto de esta última. Una de las características más remarcables de P2X2 es el aumento progresivo de su desensibilización ante estímulos sucesivos de ATP, fenómeno que depende de la presencia de calcio (Ca²⁺) extracelular y que disminuye drásticamente en células intactas o en registros en modalidad de parche perforado y también en registro en oocitos de *Xenopus*, en los cuales la composición del medio intracelular se mantiene constante. Más aún, la adición de ATP en la solución intracelular revirtió el aumento en la desensibilización inducida por Ca²⁺ extracelular en los registros de célula completa, sugiriendo que la pérdida de ATP (y por lo tanto de grupos fosfato) del medio intracelular que ocurre normalmente en los registros de célula completa es el responsable de este aumento de desensibilización. Además en receptores P2X2 expresados en oocitos, la adición de fosfatasa alcalina logró aumentar la desensibilización. Por otra parte, registros en receptores P2X2 nativos, mutados y quiméricos (P2X2 con otros subtipos P2X), permitieron determinar que el efecto de Ca²⁺ extracelular en la desensibilización es altamente específico para P2X2 y radica en sus dominios transmembrana y/o intracelulares. Todas estas evidencias sugieren que estos efectos son mediados, al menos en parte, por la acción de proteínas quinasas y/o fosfatasas dependientes de Ca²⁺, por lo que nos propusimos investigar si este receptor es efectivamente regulado por fosforilaciones y/o defosforilaciones. En células en las cuales se agregó intracelularmente el inhibidor de las proteínas quinasas A y C staurosporina, se observó la mantención de la desensibilización dependiente de Ca²⁺, incluso en la presencia de ATP intracelular. Diversas mutaciones sitio dirigidas sugieren un papel potencial de S363 en estos efectos. Finalmente, investigamos si las diferencias en la desensibilización entre P2X2a y P2X2b están también relacionadas con potenciales sitios de fosforilación y defosforilación. Encontramos que la variante P2X2a, que se desensibiliza más lento que P2X2b, posee un sitio putativo para la quinasa cdk5 y que la activación de esta quinasa es capaz de retrasar la desensibilización dependiente por Ca²⁺ en P2X2a y no en P2X2b, efecto que también se obtiene al inhibir la fosfatasa calcineurina. Registros en el mutante T372A apoyan la idea que este residuo exclusivo de P2X2a podría ser un blanco para la regulación por cdk5. En resumen, los resultados nos muestran una compleja regulación del receptor P2X2, la fosforilación de diversos residuos por proteínas quinasas resulta en una menor desensibilización de las respuestas inducidas por ATP, mientras que la defosforilación resulta en un receptor más desensibilizado, lo que podría constituir un importante mecanismo de regulación de este receptor en los diversos procesos fisiológicos en que participa.

Agradecimientos: FONDECYT 11121302, NICHD Intramural Research Grant

REGULACION DE ATP EXTRACELULAR DE EROTCITOS HUMANOS (Regulation of extracellular ATP of human erythrocytes)

Schwarzbaum, P.J.

IQUIFIB. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. (pis@qb.ffyb.uba.ar, pschwarzbaum@gmail.com).

Los eritrocitos humanos liberan ATP de manera no lítica frente a estímulos de interés fisiológico y patológico, como acidez, estimulación adrenérgica, hipoxia, aumento de volumen y estrés mecánico. Entre las vías que median la salida de ATP de estas células se destaca la panexina 1, y se han postulado varios tipos de canales aniónicos. Una vez en el espacio extracelular, el ATP puede interactuar con dos grandes grupos de proteínas de membrana: receptores purinérgicos y ecto-nucleotidasas. Estas últimas promueven la desfosforilación secuencial de ATP extracelular, generándose otros ligandos de receptores purinérgicos como ADP y adenosina. Tanto el ATP como el ADP y la adenosina extracelulares pueden activar de manera autocrina y paracrina receptores purinérgicos con capacidad de modular la salida de ATP.

Por otro lado, hemos observado en eritrocitos humanos relaciones recíprocas entre el volumen celular y el ATP extracelular. Es decir; aumentos de volumen celular activan la liberación de ATP, mientras que el ATP extracelular, actuando sobre receptores purinérgicos ionotrópicos, es capaz de inducir el aumento del volumen celular. Se analizaron resultados experimentales y teóricos (por modelización matemática) de los diferentes procesos que determinan la regulación de ATP de eritrocitos humanos. Además se describirán los mecanismos que permiten a los eritrocitos humanos modular el calibre de los vasos sanguíneos por medio del ATP extracelular.

Agradecimientos: Subsidios UBACYT (20020100100090), CONICET (PIP1187 y 0639) y ANPCyT (0151).

SIMPOSIO 3: "NUEVOS ROLES DE RECEPTORES DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES"

EFFECTO DE RECEPTORES DE ÁCIDOS GRASOS DE CADENA CORTA EN LA FUNCIÓN DEL NEUTRÓFILO (Effect of Short-Chain Fatty Acid receptors on the neutrophil function).

Burgos, R.A.

Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile (rburgos1@uach.cl).

En el proceso digestivo las bacterias producen grandes cantidades de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como acetato, propionato y butirato. Estos ácidos grasos son importantes reguladores de la integridad intestinal y se encuentran asociados a la regulación de la función inmune y desarrollo de cuadros inflamatorios. Los AGCC se unen a receptores acoplados a proteína G como GPR41, GPR43 y GPR109A, y en el sistema inmune modulan la quimiotaxis y fagocitosis, como también inducir la producción de especies reactivas del oxígeno. En rumiantes como el bovino, la producción de AGCC se originan por fermentación ruminal, siendo la principal fuente de energía. Estos animales son sometidos a estrés productivo para aumentar su eficiencia, lo que se realiza mediante modificaciones en la dieta, aumentando los niveles de energía y reduciendo el contenido de fibra, ello origina trastornos metabólicos y diversos problemas inflamatorios. Hemos demostrado, mediante RT-PCR, que neutrófilos de bovino posee los receptores a AGCC y que su estímulo puede inducir movilización de calcio intracelular, la activación de p38 MAPK, ERK1/2, reducción del pH intracelular y la liberación de gránulos citoplasmáticos que contienen metaloproteína-9 y lactoferrina. Además, AGCC como butirato sería capaz de potenciar la respuesta del neutrófilo frente a otros estímulos pro-inflamatorios. Todos los antecedentes disponibles sugieren que los AGCC pueden ejercer un efecto relevante en la mantención de la homeostasis del sistema inmune y digestivo, y debido a que sus niveles son regulados por la dieta, permite asociarlos al incremento de la prevalencia de enfermedades inflamatorias inducido por transgresiones alimentarias.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1090401 y 1120718

ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE CADENA LARGA Y GPR120: ¿DE SEÑAL SENSORIAL A SEÑAL PARACRINA (GPR120 and long chain unsaturated fatty acids: from taste to paracrine signaling?).

Reyes, J.G.¹; Paillamanque, J.¹; Carmona, E.¹; Caceres, R.¹; Pino, J.A.¹; Osses, N.²; Moreno, R.D.².

¹Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile; ²Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago (jreyes@ucv.cl).

GPR120 se describió como receptor huérfano (familia rodopsina, Fredriksson et al, 2003). Sus roles principales son de sensor de ácidos grasos (AG, papilas gustativas e intestino), homeostasis metabólica y energética (adipocitos, páncreas e hipotálamo). En nuestro trabajo asociado a señalización célula-célula en testículo de rata, mostramos que las células epiteliales (Sértoli) secretan ácido araquidónico (AA) de manera FSH-dependiente. AA y otros AG poliinsaturados y monoinsaturados (UFAs) producen liberación de Ca²⁺ de almacenes intracelulares (ICaS) en células espermatogénicas (espermatoцитos y espermátidas) en forma dosis-dependiente y una K_{0,5} en el rango 3-10 μM. Ácido palmítico (saturado) o anandamida (metabolito de AA) producen liberación marginal de Ca²⁺ hasta 16 μM. UFAs no producen cambios en permeabilidad no selectiva de la membrana plasmática de las células. La liberación de ICaS inducida por AA fue disminuida por inhibidores de proteínas G, PLA2, Erk, RyR y canales de compartimentos intracelulares ácidos. Inhibición de PKA y AMPK estimulan el efecto de AA sobre liberación de Ca²⁺. UFAs no modifican el potencial de membrana ni pHi en estas células. En espermátidas, pero no en espermatoцитos, concentraciones de UFAs >8 μM producen un efecto directo sobre potencial de membrana mitocondrial. Las células

espermatogénicas expresan GPR120 pero no GPR40 u 84, tanto a nivel de mRNA como proteína. Nuestros resultados indican que UFAs (liberadas por las células de Sértoli) vía GPR120 y activación de quinasas activan canales de liberación de Ca²⁺ de ICaS. Proponemos estos efectos como parte de la señalización célula-célula del túbulo seminífero y que controlarían desarrollo espermatogénico.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt 1140758

ROL DE GPR40 (FFAR1) EN FUNCIÓN INMUNE INNATA (Role of GPR40 (FFAR1) in innate immune function).

Hidalgo, M.A.

Instituto de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile (mahidalgo@uach.cl).

Los ácidos grasos de cadena larga han sido asociados con un desbalance de la función inmune innata. Neutrófilos y macrófagos son las primeras células en llegar al tejido dañado o infectado y estudios recientes han demostrado que estas células son activadas por ácidos grasos de cadena larga. Ácido oleico y linoleico activan diversas respuestas en el neutrófilo, como producción de anión superóxido y liberación de gránulos. Recientemente, demostramos que el neutrófilo bovino expresa un receptor ortólogo a GPR40/FFAR1 humano. Mediante clonamiento, modelamiento y expresión en células CHO se demostró que este receptor corresponde a un receptor de ácidos grasos de cadena larga similar a GPR40/FFAR1 humano. La activación del receptor con ligandos naturales y sintéticos induce aumento de calcio intracelular, el que es mediado por fosfolipasa C. En neutrófilos, la activación de GPR40/FFAR1 induce la fosforilación de MAPK y Akt, la activación de la vía NF-κB, y la expresión de COX-2 e IL-8. MAPK y Akt diferencialmente controlan la activación de la vía NF-κB y la liberación de gránulos de metaloproteína-9. Recientes resultados demostraron que GPR40/FFAR1 se expresa en células de epitelio endometrial bovino, sugiriendo un rol de este receptor en la inmunidad innata en este tejido. En células de epitelio endometrial se observó que ácido oleico y linoleico inducen un incremento de calcio intracelular.

En conclusión, nuestros resultados indican que el receptor GPR40/FFAR1 se expresa y tiene un rol funcional en células inmunes, sugiriendo un nuevo link entre metabolismo e inmunidad innata.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt No. 11100413 y DID-UACH S-2014-23.

SIMPOSIO 4: “Los Toll-Like RECEPTORS (TLRs) MOLÉCULAS CLAVES EN LA INFLAMACIÓN, RESPUESTA INMUNE Y REPARACIÓN TISULAR”

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LA INTERACCIÓN DE PATRONES MOLECULARES ASOCIADOS A DAÑO (DAMPS) CON TLRs EN LA RESPUESTA ANTITUMORAL

Salazar, F.

Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Instituto Milenio de Immunología e Immunoterapia, Universidad de Chile, 8380453 Santiago, Chile.

Las células tumorales son capaces de inducir una respuesta inmune mediada por Linfocitos T contra antígenos asociados a tumores. Las células dendríticas (DC) son las células presentadoras de antígenos más potentes, capaces de capturar antígenos asociados a melanoma (MAAs) y presentarlos, después de su procesamiento, en el contexto de MHC de clase I y clase II a los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺. Durante los últimos 5 años, hemos realizado ensayos clínicos usando DCs derivadas de monocitos producidas *ex vivo* para el tratamiento del melanoma maligno. La diferenciación rápida *in vitro* (48 horas) de los monocitos de sangre periférica a células presentadoras de antígenos tumorales (TAPCells) requiere la presencia de un lisado celular llamado TRIMEL compuesto por material celular obtenido a partir de tres líneas de melanoma. La inducción de la diferenciación y maduración TAPCells mediada por TRIMEL puede ser detectada por el aumento de la expresión de varios marcadores de superficie tales como, CD11c, MHC de clase I y II, CD80, CD86, CD83, DCSign, y DEC-205 y por la liberación de citoquinas proinflamatorias tales como IL-6, IL-10, TNF- α e IL-12. Por otra parte, las TAPCells diferenciadas pueden inducir células T específicas contra melanoma capaces de liberar IFN- γ y también puede lograr la presentación cruzada de MAAs a linfocitos T citotóxicos.

La capacidad de TRIMEL para inducir la diferenciación de las TAPCells depende de su fenotipo tumoral y del tratamiento previo de las líneas en condiciones de estrés, tales como choques de calor y radiación UV. De hecho, lisados de células tumorales no estresadas o de células normales no mostraron efecto significativo en la capacidad de activación de las DCs. Tratamientos de estrés inducen la expresión de varios patrones moleculares asociados a daño en células de melanoma. Algunos de esos DAMPS son Calreticulina y HMBG-1. En efecto, se observó el aumento de los niveles de expresión de CRT en la superficie celular y también la liberación de HMBG-1 en las células del melanoma estresados. El bloqueo de la CRT de HMGB1 y del TLR4 con anticuerpos monoclonales específicos reduce la maduración de las DC, indicando que estos factores señalizan a través de receptores tipo Toll. Particularmente el receptor TLR4 se encuentra claramente relacionado con la capacidad de las DCs de reaccionar a los estímulos tumorales. Estos conocimientos resultan valiosos para el diseño de nuevas inmunoterapias antitumorales.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1130320, 1130324, Millennium P09/016-F

ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DE TLR-4 EN LA REGULACIÓN DE LA RESPUESTA CLÍNICA INDUCIDA POR INMUNOTERAPIA CELULAR

López, M.

Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Instituto Milenio de Immunología e Immunoterapia, Universidad de Chile, Laboratorio de Terapia Celular, Hospital Clínico de la Universidad de Chile, 8380453 Santiago, Chile.

Introducción. Durante los últimos 5 años, hemos desarrollado un método original para la producción de células dendríticas para uso terapéutico denominadas células presentadoras de antígeno tumorales *Tumor antigen presenting cells* (TAPCells[®]) utilizando un lisado alógeno de células derivadas de melanoma (TRIMEL) que actúa como factor de activación y proveedor de antígenos. La inmunoterapia basada en TAPCells[®] induce respuestas inmunes mediadas por linfocitos T y una mayor supervivencia a largo plazo de pacientes con melanoma en estadio IV en estudios que incluyeron más de 100 individuos (López et al 2009, J Clin Oncol; Aguilera et

al 2011, Cancer Res Clin.). Es importante destacar que el 61% de los pacientes analizados (58 de 94) mostró una hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) reacción contra TRIMEL que indica el desarrollo de memoria inmunológica anti-tumoral que se correlaciona con la supervivencia prolongada de los pacientes. El receptor tipo Toll-4 (TLR4) se expresa en las células dendríticas (DC), y estaría detectando moléculas de peligro ambientales de los tumores que inducen la activación y maduración de las DCs. Material y Métodos. Ya que TRIMEL contiene ligandos TLR4 endógenos, se evaluó el papel de la asociación de un polimorfismo Tlr4 (896A / G) en células de pacientes con la capacidad de activación *in vitro* y el resultado clínico de los pacientes con melanoma TAPCells[®] vacunados. Resultados y Discusión. El bloqueo de TLR4 en monocitos de pacientes afectó la capacidad de maduración de las TAPCells[®]. Además, la capacidad de activación de las células T CD8⁺ se redujo significativamente en pacientes que llevan el receptor con polimorfismo TLR4 Asp299Gly. Por último, los pacientes con melanoma en etapa IV-TAPCells[®] vacunados que llevan el alelo 896G Tlr4 mostraron una tasa de supervivencia media más corta después de la terapia en comparación con los portadores del alelo Tlr4 896A. Conclusión. Nuestros resultados indican que el polimorfismo de TLR4 es un receptor clave para la eficacia de las vacunas de células presentadoras de antígenos. Un análisis más detallado de los pacientes incluidos en los diferentes protocolos de vacunas es necesario para establecer definitivamente el papel de polimorfismo de TLR4 en las respuestas clínicas.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1130320, 1130324, Millennium P09/016-F

TLR4 EN FIBROBLASTOS CARDIACOS MODULA LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y REPARACIÓN TISULAR EN EL CORAZÓN (TLR4 in cardiac fibroblasts modulates tissue repair and inflammatory response in the heart).

Díaz Araya, G.

Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (gadiaz@ciq.uchile.cl).

En el corazón, la reparación tisular post-infarto al miocardio se desarrolla en tres etapas sucesivas, primero una etapa inflamatoria, luego una etapa proliferativa y finalmente una etapa de maduración de la cicatriz. La etapa inflamatoria se considera como una de las etapas más importantes dentro de la cicatrización, ya que una etapa inflamatoria exacerbada correlaciona con el desarrollo de fibrosis intersticial. Los fibroblastos y miofibroblastos cardiacos son células claves en la reparación tisular, puesto que liberan y responden activamente a diversas citoquinas y factores de crecimiento, lo que les otorga un rol primordial en procesos inflamatorios. Además, secretan grandes cantidades de proteínas de la matriz extracelular, necesarias para una cicatrización efectiva lo que las convierte en importantes participantes del proceso de maduración de la cicatriz. Ambos tipos celulares expresan el receptor de tipo Toll-4 (TLR-4), y su activación por LPS, o heparan sulfato (conocidos ligandos de TLR4), activan las vías de señalización ERK1/2 MAPK, Akt y NF- κ B. Estas vías llevan a la citoprotección de los fibroblastos frente a condiciones de daño tisular, como estrés por isquemia/reperfusión; y a la síntesis y liberación de TNF- α e IL-1 β , mientras que inhiben la liberación de TGF- β 2, 3. Estas citoquinas en su conjunto regulan el comportamiento y las funciones de las células residentes y de las células infiltradas, siendo por lo tanto, de mayor importancia en la reparación tisular. Además, la activación de TLR4 revierte el fenotipo profibrótico de los miofibroblastos, disminuye la secreción de colágeno e induce la liberación de metaloproteasas 2 y 9. Lo anterior en su conjunto conduce a un menor depósito de proteínas de la matriz extracelular. En resumen, los fibroblastos y miofibroblastos cardiacos expresan TLR4 y su activación permite modular la respuesta inflamatoria y la reparación tisular.

Agradecimientos: Financiamiento FONDECYT 1130300

PRESENTACIONES ORALES: INCORPORACIONES

ASOCIACIÓN ENTRE POLIMORFISMOS DE CYP3A4, GSTM1, GSTT1, GSTP1 Y BMHL CON EFECTOS ADVERSOS A LA QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES CON CÁNCER TESTICULAR (Association between polymorphisms in CYP3A4, GSTM1, GSTT1, GSTP1 and BMHL with adverse reactions in neoadjuvant chemotherapy in testicular cancer patients).

Roco, A.^{1,2}

¹Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF), ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ²Servicio de Salud Metropolitano Occidente (angela.roco@redsalud.gov.cl, aroco@farmacogenetica.cl).

El cáncer de testículo es el cáncer de mayor prevalencia en hombres jóvenes entre 20 a 35 años, la mortalidad en Chile en el año 2011 corresponde a 1,2 por cien mil hombres, tasa mayor a la mundial que se encuentra en 0,3 por cien mil hombres. Se han observado grandes variaciones inter-individuales en las toxicidades inducidas por tratamientos entre pacientes que han recibido regímenes de quimioterapia similares. La farmacogenómica podría ayudar a advertir de reacciones adversas a fármacos a los médicos tratantes. Nuestro objetivo es correlacionar los efectos adversos de la quimioterapia con cisplatino en pacientes con Cáncer Testicular con la presencia de polimorfismos de las enzimas CYP3A4, GST-M1, GST-T1, GST-P1 y BLMH. Metodología: El DNA fue obtenido de individuos con Cáncer testicular. El análisis genotípico de las enzimas se realizó por PCR-RFLP. Resultados: Para el análisis estadístico, todas las variables fueron divididas en reacciones adversas moderadas (grado 1-2) o severas (grado 3-4). El análisis estadístico se realizó sobre las RAMs con mayor frecuencia: vómitos, náuseas, anemia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia y linfocitopenia. Los genotipos *GSTM1(-)* y *Bleomicina Hidrolasa (A1450G)* presentan un mayor riesgo de desarrollar Anemia Grado I-II (p value= 0,033 y p value= 0,046, respectivamente), la presencia del genotipo *GSTT1(-)* aumenta el riesgo individual de desarrollar Linfopenia Grado III-IV (p value= 0,013), no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos CYP3A4*1B y *GSTP1 (A313G)* con las RAM analizadas.

Agradecimientos: Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1140434.

Patrocinante: Quiñones Sepúlveda, L.

LA EXPOSICIÓN NEONATAL A HORMONAS SEXUALES AFECTA A LARGO PLAZO ÁREAS DOPAMINÉRGICAS CEREBRALES INVOLUCRADAS EN MOTIVACIÓN Y LOCOMOCIÓN (Neonatal exposure to sex hormones affects long term dopaminergic brain areas involved in motivation and locomotion).

Espinosa, P.¹; Riquelme, R.¹; Silva, R.¹; Sanguinetti, N.¹; González, L.F.¹; Cruz, G.²; Renard, G.M.¹; Sotomayor-Zárate, R.^{1,3}

¹Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, ²Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. ³Núcleo Milenio Estrés y Adicción (NEDA), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile (ramon.sotomayor@uv.cl).

El concepto de "programming" se define como la redirección fisiológica de un órgano por efecto de un estímulo en un periodo sensible del desarrollo. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue determinar los cambios a largo plazo producidos por la administración neonatal de testosterona propionato (TP) y estradiol valerato (EV) en neuronas dopaminérgicas mesolímbicas-nigroestriales de ratas adultas, y sus implicancias en la respuesta a drogas de abuso.

En este trabajo se utilizaron ratas Sprague-Dawley de ambos sexos que al día postnatal 1 (DPN1) recibieron una dosis de TP (1mg/50µL s.c.), EV (0,1mg/50µL s.c.) o aceite de maíz (50µL s.c.). Al DPN60 los animales fueron separados para realizar experimentos neuroquímicos y conductuales. A nivel neuroquímico se microdisectó Sustancia Nigra-Área Tegmental Ventral

(SN-VTA) y Cuerpo Estriado (CE) para determinar el contenido de dopamina (DA). Microdiálisis cerebral *in vivo* se usó para medir la liberación de DA en Núcleo-Accumbens (NAcc) bajo condiciones basales y estimuladas. La medición de DA se realizó en un HPLC-Detección Electroquímica y a nivel conductual se midió la actividad locomotora basal e inducida por anfetamina (1 mg/Kg i.p.).

Nuestros resultados demuestran que la administración neonatal de EV y TP producen un aumento del contenido de DA en ratas adultas, que se relaciona a una mayor liberación de DA inducida por K⁺. Sin embargo, la liberación de DA inducida por anfetamina en ratas tratadas con EV fue significativamente menor relacionándose con una menor actividad locomotora. Nuestros resultados demuestran que la exposición neonatal a hormonas sexuales podrían afectar a largo plazo a proteínas claves en la regulación dopaminérgica, como la Tirosina Hidroxilasa y el Transportador de DA.

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por Proyecto Fondecyt de Inicio en Investigación N° 111-21205 y Núcleo Milenio Estrés y Adicción Proyecto N° P10/063-F.

Patrocinantes: Sotomayor-Zárate, R.; Renard, G.M.

FUNCIÓN VENTRICULAR EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO MIOCÁRDICO TRATADOS CON PROTOCOLO DE REFORZAMIENTO ANTIOXIDANTE SOMETIDOS A ANGIOPLASTIA CORONARIA PERCUTANEA (Ventricular function in patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary angioplasty subjected to an antioxidant reinforcement protocol).

Libuy, M.¹; Valls, N.¹; Brito, R.¹; Gormaz, J.G.¹; Contreras, C.¹; Hasson, D.¹; Prieto J.C.^{1,2}; González, J.¹; Aguayo, R.³; Ness, K.³; Ramos, C.⁵; León, L.⁴; Rodrigo, R.¹

¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Departamento Cardiovascular, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. ³Departamento de Cardiología, Hospital San Juan de Dios, Universidad de Chile. ⁴Departamento de Cardiología, Hospital San Borja Arriarán, Universidad de Chile. ⁵Departamento de Imagenología, Hospital Clínico Universidad de Chile.

Introducción. Se ha sugerido que el estrés oxidativo juega un papel determinante en el daño por isquemia-reperusión (IR) asociado al infarto agudo miocárdico (IAM). Objetivo: Determinar el efecto de un protocolo de reforzamiento antioxidante sobre la función ventricular en pacientes con IAM sometidos a angioplastia coronaria percutánea (ACP). Metodología: Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, doble-ciego controlado con placebo en 19 pacientes con indicación de ACP por IAM. Los pacientes recibieron protocolo de reforzamiento antioxidante con ascorbato de sodio o placebo previo a la ACP y vitaminas A y E posterior a la ACP. Se categorizó en dos grupos, nivel alto de ascorbato (≥ 1 mmol/L, AA) y nivel bajo de ascorbato (<1 mmol/L, BA). La función ventricular y remodelación miocárdica se estimaron mediante resonancia magnética cardíaca (RMC) a los 6 y 84 días post-ACP a partir de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) e índice de masa ventricular (VMi), respectivamente. Finalmente, se comparó la FEVI y VMi según grupo AA y BA utilizando la prueba estadística de Wilcoxon Rank-sum test. Resultados: En la RMC del día 84 se comprobaron diferencias significativas entre la media de las FEVI de ambos grupos ($p < 0.05$). No hubo diferencias significativas en el VMi entre ambos grupos ni al día 6 ni al día 84 ($p > 0.05$). Conclusión: La diferencia significativa en FEVI entre ambos grupos AA y BA es concordante con la evidencia existente sobre el papel protector de compuestos antioxidantes en el daño asociado a IR en IAM.

Agradecimientos: Financiado por proyecto FONDECYT N° 1120594.

Patrocinante: Prieto, J.C.

ESTADO REDOX DE PACIENTES CON INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO SOMETIDOS A ANGIOPLASTÍA CORONARIA PERCUTÁNEA PREVIA ADMINISTRACIÓN DE DOSIS MASIVAS DE ASCORBATO (Redox state of patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary angioplasty after the administration of massive doses of ascorbate).

Brito, R.¹; Valls, N.¹; Libuy, M.¹; González, J.^{1,2}; Gormaz, J.G.¹; Prieto J.C.²; Aguayo, R.³; Nes, K.³; Ramos, C.²; León, L.⁴; Rodrigo, R.¹

¹Laboratorio de Estrés Oxidativo y Fisiopatología Renal, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. ²Hospital Clínico de la Universidad de Chile, Chile. ³Hospital San Juan de Dios, Chile. ⁴Hospital Clínico San Borja Arriarán, Chile (r_brito@ug.uchile.cl).

La angioplastia coronaria percutánea (ACP) posterior a infarto agudo de miocardio (IAM) conduce a un fenómeno de isquemia-reperusión asociado a la generación de estrés oxidativo, lo que puede dar cuenta de hasta un 50% del tamaño final del IAM. En el siguiente estudio se evalúa el estado redox de pacientes con IAM sometidos a protocolo de protección antioxidante previo a la reperusión miocárdica secundaria a ACP. En este ensayo clínico doble ciego, aleatorizado y controlado por placebo, los pacientes enrolados son aleatoriamente asignados en 2 grupos: (a) grupo suplementado, que recibe 54 g/L de ascorbato de sodio endovenoso, comenzando antes de la reperusión (b) grupo control. Se tomaron 4 muestras sanguíneas: Una inmediatamente antes de coronariografía (M1), una muestra post-reperusión (M2), una muestra a las 6-8 horas después de finalizado el proceso de revascularización (M3) y una antes del alta (M4). Los pacientes se dividieron en dos grupos, de acuerdo a los niveles plasmáticos de ascorbato en M2: niveles altos (AA) o niveles bajos (BA). Para el estado redox, se consideraron las siguientes mediciones: capacidad antioxidante plasmática total (CAPT), glutatión reducido (GSH) en eritrocitos y malondialdehído (MDA) plasmático. El grupo AA presentó una CAPT mayor en M2 y M3 que BA y niveles menores de GSH en M3 (p<0,05). No hubo diferencias en los niveles de MDA. De esta manera, se evidencia una mayor capacidad antioxidante en los pacientes con niveles altos de ascorbato plasmático, lo que representa un mecanismo protector frente al daño por reperusión miocárdica.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT, proyecto N° 1120594.

Patrocinante: Prieto, J.C.

EVANS BLUE REDUCED ELECTRICALLY EVOKED BUT NOT BASAL ATP RELEASE FROM PERIPHERAL SYMPATHETIC NERVE ENDINGS, POSSIBLE ROLE OF VESICULAR NUCLEOTIDE TRANSPORTER (Azul de Evans reduce la liberación de ATP inducida eléctricamente pero no la basal, desde terminales nerviosos simpáticos, posible rol del transportador vesicular de nucleótidos).

Barra, R.; Cayupe, B.; Donoso, V.; Huidobro-Toro, J.P.

Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Estación Central, y Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

The functional role of the vesicular nucleotide transporter in sympathetically innervated tissues remains unknown. To examine its functional role on the release of ATP from sympathetic nerve endings, the rat isolated mesenteric bed was perfused with buffer alone (controls) or containing 0.1 or 1 μM Evans Blue (EB), a purported transporter antagonist. The overflow of sympathetic co-transmitters was collected from the effluent following 20-Hz electrical stimulation of the tissue sympathetic nerve endings. The perfusate was collected to determine ATP and metabolites following chemical derivatization, NA by electrochemistry and neuropeptide tyrosine (NPY) by radioimmuno analysis. In addition the rise in tissue perfusion pressure elicited by the stimuli was recorded in each

experiment. While EB did not modify basal release of ATP, NA or ir-NPY, it gradually reduced the release of ATP elicited by electrical nerve stimulation, reaching a 92% in reduction with 1 μM. This concentration also reduced the overflow of NA, but not ir-NPY. In addition, rats treated with 0.2 or 2 mg/kg reserpine for 48h, showed a reduced NA basal value, and gradually reduced NA overflow; the 2mg/kg dose reduced ir-NPY outflow, without modifying ATP release. The rise in perfusion pressure elicited the 20-Hz a stimulus was not modified by EB, while reserpine treatment significantly reduced the rise in vasomotor effect elicited by either the 20 or 40-Hz stimuli. Altogether, the present results are consistent with the idea that the vesicular nucleotide transporter is sensitive to EB in functional studies highlighting the role of ATP in sympathetic-transmission.

Acknowledgements: This project was funded by FONCECYT postdoctoral grant 3130573 to RB and FONDECYT 114-1132 to JPH; supplemental funds derived from the ICM, project NuBEs.

Sponsor: Huidobro-Toro, J.P.

IDENTIFICACIÓN DE microRNAs INVOLUCRADOS EN LA MODULACIÓN DE FACTORES PROANGIÓGENICOS EN ATROSCLEROSIS POR POLIFENOLES DE PROPÓLEOS (Identification of microRNAs involved in the modulation of pro-angiogenic factors in atherosclerosis by a polyphenol-rich extract from propolis).

Cuevas, A.¹; Saavedra, N.¹; Cavalcante, M.F.²; Salazar, L.A.¹; Abdalla, D.S.²

¹Centro de Biología Molecular y Farmacogenética, Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN), Universidad de La Frontera; ²Departamento de Análisis Clínicos & Toxicológicos, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidade de São Paulo (alejandrocuevas@ufrontera.cl).

La neovascularización juega un rol crítico en la progresión y vulnerabilidad de la lesión aterosclerótica. Estudios recientes han mostrado que los polifenoles del propóleo atenúan la progresión de la aterosclerosis, así como también tienen un efecto inhibitorio sobre factores angiogénicos expresados en la placa. Sin embargo, los mecanismos implicados en estos efectos no se conocen por completo. Así, el objetivo de este estudio fue identificar microRNAs (miRNAs) involucrados en la modulación de factores proangiogénicos expresados en tejido aterosclerótico de ratones LDL^{-/-} tratados con un extracto rico en polifenoles de propóleos chileno. La progresión de la lesión aterosclerótica fue significativamente atenuada en los ratones tratados en comparación al grupo control. Utilizando un análisis de *microarrays* y un enfoque bioinformático, se identificaron 29 miRNAs diferencialmente expresados, implicados en procesos como angiogénesis, ciclo celular, migración y proliferación celular. Al respecto, la sobreexpresión de miR-181a, miR-106a y miR-20b inducida por el tratamiento con polifenoles se correlacionó con la represión de la expresión de sus genes diana *Vegfa* y *Hif1a* y la represión de la expresión proteica de *Vegf-a* en *sinus aórtico*. *Vegf-a* es un factor proangiogénico relevante en la inducción de la progresión y la desestabilización de la placa aterosclerótica y *Hif1a*, expresado en el núcleo necrótico de la placa de ateroma, su inductor principal. Estos datos son consistentes con la atenuación de la progresión de la lesión. En conclusión, nuestros datos proporcionan evidencia de que el efecto antiangiogénico de los polifenoles de propóleos chileno puede ser modulado por miRNAs.

Agradecimientos: Este estudio fue financiado por CONICYT (Chile), FAPESP (São Paulo, Brasil) y CAPES (Brasil). N.S. es investigador post-doctoral apoyado por el Convenio de Desempeño – Universidad de La Frontera (Chile).

Patrocinante: Salazar Navarrete, L.

EFFECTOS ANTIESTRÉS DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y UN ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE CANNABINOIDES TIPO 1 (AM251) (Anti-stress effects of omega-3 fatty acids and cannabinoid receptor type 1 antagonist (AM251)).

Dagnino-Subiabre, A.

Laboratorio de Neurobiología y Conducta, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. (alexies.dagnino@uv.cl; www.stress.cl).

El estrés y el sistema endocanabinoide (eCB) regulan la actividad de varias áreas del sistema límbico involucradas en la memoria y las emociones, tales como el hipocampo y la amígdala. El estrés crónico aumenta la concentración de eCBs y disminuye los niveles de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) tipo ω -3 en el cerebro. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la suplementación con ω -3 o un antagonista del receptor de cannabinoides tipo 1 (CB_1) (AM251), sobre los principales marcadores del estrés y la memoria. Ratas machos *Sprague-Dawley* fueron estresadas crónicamente durante 21 días (restricción de movimiento), en este periodo los animales fueron suplementados con ω -3 o tratados con AM251. Los marcadores del estrés analizados fueron la concentración plasmática de corticosterona (ELISA) y la ansiedad (laberinto en cruz elevado). La memoria fue evaluada a través del laberinto acuático de Morris. La suplementación con ω -3 y el tratamiento con AM251 disminuyeron los marcadores del estrés y previnieron el deterioro de la memoria que induce el estrés crónico. Estos resultados demuestran que la suplementación con ω -3 y el tratamiento con AM251 tuvieron dos efectos beneficiosos en las ratas estresadas, mejoraron la memoria y tuvieron un potente efecto antiestrés.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT N° 1141276 (D-S, A)

Patrocinante: Sotomayor-Zárate, R.

PRESENTACIONES ORALES: INCORPORACIONES Y POSTULACIONES AL PREMIO PROF. DR. JORGE MARDONES R.

ROL DEL RECEPTOR DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES GPR40 EN LA MOVILIZACIÓN DE CALCIO, LIBERACIÓN DE GRÁNULOS Y PRODUCCIÓN DE SUPERÓXIDO EN NEUTRÓFILOS DE BOVINO (Role of free fatty acid receptor GPR40 in calcium mobilization, granule release and superoxide production in bovine neutrophils).

Manosalva, C.; Maimae, M.; Mena, J.; Burgos, R.A.; Hidalgo, M.A.

Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile (carolinamansalva@uach.cl).

El neutrófilo es la primera línea de defensa contra microorganismo y se ha demostrado que los ácidos grasos de cadena larga, como ácido oleico (AO) y ácido linoleico (AL), pueden modular la respuesta del neutrófilo de bovino. Por otra parte se ha determinado que los neutrófilos de bovino expresan un receptor acoplado a proteína G cuyos ligandos endógenos son AO y AL denominado GPR40. Con estos antecedentes postulamos que AO y AL modulan la respuesta oxidativa y no-oxidativa en neutrófilos de bovino mediante la activación de GPR40. En este trabajo demostramos que AO, AL y el agonista de este receptor GW9508, a concentraciones micromolares, inducen un aumento intracelular de calcio en células CHO transfectedas con bGPR40. Además, esta respuesta fue inhibida con un inhibidor de PLC, U73122, y un antagonista del receptor GPR40, GW1100. Estas mismas respuestas fueron observadas en el neutrófilo de bovino. Además determinamos mediante zimografía que AO y AL inducen la secreción de MMP-9, sin embargo, no aumentó significativamente la expresión de CD11b analizada por citometría de flujo. La liberación de MMP-9 fue inhibida parcialmente por GW1100 y U73122 y el inhibidor de PKC estaurosporina. Por otra parte, determinamos que ácido oleico y ácido linoleico aumentan la producción de superóxido mediante citometría de flujo y esta respuesta fue inhibida parcialmente por GW1100, U73122 y estaurosporina, demostrando con esto que la producción de MMP-9 y superóxido por AO y AL en neutrófilos de bovino es mediada en parte por activación de GPR40-PLC y PKC.

Agradecimientos: FONDECYT N°11100413 y Beca de apoyo de tesis doctoral CONICYT No. 24121495.

Patrocinante: Hidalgo Gómez, M.A.

EFFECTOS DE ETANOL SOBRE LAS CORRIENTES SINÁPTICAS GLICINÉRGICAS EN CULTIVOS DE NEURONAS ESPINALES DE RATÓN (Effects of Ethanol on Glycinergic Synaptic Currents in Mouse Spinal Cord Neurons).

Mariqueo, T.A.^{1,2}, Agurto, A.¹, Muñoz, B.¹, San Martín, L.¹, Coronado, C.¹, Fernández-Pérez, E.¹, Murath, P.¹, Homanics, G.E.¹ y Aguayo, L.G.¹

¹Laboratorio de Neurofisiología Universidad de Concepción. ²Programa de Doctorado en Farmacología Universidad de Chile (tmariqueo@utalca.cl).

En este trabajo estudiamos los mecanismos de acción de etanol sobre la neurotransmisión glicinérgica en neuronas espinales de ratón C57BL/6 en cultivo. Encontramos que etanol aumenta la frecuencia de las corrientes glicinérgicas en miniatura (mIPSCs). Este efecto fue dependiente de la vía de señalización de calcio, ya que la incubación de las células con BAPTA-AM, un inhibidor de fosfolipasa C o de los receptores de IP3 redujo este efecto. El bloqueo de la vía de señalización mediada por Adenilato ciclasa/PKA produjo el mismo efecto. A nivel post sináptico, etanol aumento la constante de decaimiento de los mIPSCs (30±10%), en un grupo de neuronas (n=13/26). Por otra parte, las corrientes activadas por glicina en estas células fueron consistentemente potenciadas (69±13%). Interesantemente, la activación de la proteína G, mediante la diálisis intracelular del análogo no hidrolizable de GTP (GTPγS) aumentó la constante de decaimiento de un grupo de neuronas (28±12%, n=11/19 células) y potenció las corrientes activadas por glicina en la mayoría de ellas (86±31%, n=11/12).

Estudios de microscopía confocal mostraron que la subunidad α1 del receptor de glicina (R-Gli), Gβ y un marcador de sinapsis (Piccolo) colocalizan en un 40% de los receptores sinápticos. En conclusión, nuestro estudio demostró que a nivel pre-sináptico etanol facilita la liberación de glicina aumentando la frecuencia de las minis glicinérgicas, a través de la activación de las vías de señalización PLC/IP3R/Ca²⁺ y AC/PKA. A nivel post-sináptico los efectos de etanol, estuvieron determinadas por el acoplamiento de los R-Glis con la proteína Gβγ.

Agradecimientos: Programa de Doctorado en Farmacología de la Universidad de Chile (Proyecto MECESUP UCH 0704) y Proyecto NIAAA AA17875.

Patrocinante: Zuñiga, J.

NUEVA FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE AGMATINA (A new agmatine pharmaceutical formulation).

Martínez, M.P.^{1,2}; Gómez, C.³; Godoy, R.⁴; Uribe, E.A.⁵; Sepúlveda, M.J.²

¹Unidad de Desarrollo tecnológico de la Universidad de Concepción. ²Laboratorio de Neuroquímica y Psicofarmacología, Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ³Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. ⁴Laboratorio de Cromatografía y Lipodómica, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. ⁵Laboratorio de Enzimología, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción (mariapmartinez@udec.cl).

Estudios realizados en nuestro laboratorio, en animales de experimentación, han permitido concluir que agmatina (derivado descarboxilado de arginina) potencia el efecto analgésico de morfina y atenúa el desarrollo de tolerancia e intensidad de la dependencia a ésta. Estos resultados, en conjunto con los obtenidos por distintos laboratorios a nivel mundial, han permitido postular que agmatina podría ser utilizada como apoyo farmacológico para el tratamiento de patologías asociadas a dolor crónico, depresión y dependencia de drogas. Agmatina se absorbe por vía oral, atraviesa la barrera hematoencefálica y se ha demostrado su efectividad en modelos biológicos y ensayos clínicos. Sin embargo, en el mercado chileno no existen formulaciones farmacéuticas de agmatina, por lo que se planteó como objetivo desarrollar y caracterizar una formulación farmacéutica para esta molécula. Las patologías mencionadas son de carácter crónico, por lo que la formulación debería ser de fácil administración para favorecer la adherencia al tratamiento. Así, se planteó como hipótesis que un granulado efervescente de administración oral podría constituir una alternativa factible de formulación de agmatina. Se desarrolló una formulación de agmatina, a la forma de granulado efervescente por vía húmeda. Esta formulación presentó buena efervescencia y rápida solubilidad. La evaluación preclínica en animales de experimentación indicó que agmatina no altera el peso de los ratones ni su comportamiento normal, por lo tanto, dichas dosis son seguras para ser administradas en tratamientos crónicos. Estos resultados demuestran que agmatina puede ser formulada como un granulado efervescente, con ausencia de efectos secundarios comprobados en animales de experimentación.

Agradecimiento: Fondecyt N° 1120663 y Proyecto DIUC N° 211.032.015-1.0.

Patrocinante: Gómez, C.

PRESENTACIONES ORALES: POSTULACIONES AL PREMIO PROF. DR. JORGE MARDONES R.

HIF1-ALFA INHIBITION PREVENTS MORPHOFUNCTIONAL IMPAIRMENT OF HIPPOCAMPUS INDUCED BY PERINATAL ASPHYXIA

Rojas-Mancilla, E.^{1,4}; Neira-Peña, T.^{1,4}; Carreño, M.⁵; Lorca, G.¹; Bustamante, D.¹; Leyton, L.²; Valdés, J.L.³; Rojas, P.⁵; Morales, P.¹; Morales, B.⁵; Herrera-Marschitz, M.¹.

¹Programme of Molecular & Clinical Pharmacology and ²Programme of Cellular & Molecular Biology, ³Programme of Physiology and Biophysics, ICBM, Medical Faculty, University of Chile, Santiago, Chile. ⁴Department of Chemical and Biological Sciences, University Bernardo O'Higgins, Santiago, Chile. ⁵Laboratorio de Neurociencias, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. (edgardo.rojas@ubo.cl; esrojas@med.uchile.cl).

Perinatal asphyxia can induce inflammation and astrocyte reactivity, impairing neuronal branching and synaptogenesis, affecting hippocampus development. HIF-1alpha is a first molecule in the signalling cascade triggered by hypoxia, implied in neuroprotective or deleterious effects depending upon the intensity of the insult. We show here the deleterious effect of asphyxia on hippocampus and its protection by HIF-1alpha inhibition. Asphyxia was induced by immersing G22 foetuses into a water bath at 37°C for 21 min. Rats were treated with YC-1 [3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzylindazole; a HIF-1alpha inhibitor], 2mg/kg i.p. 30 min after delivery. Hippocampi from control and asphyxia-exposed rats were (i) dissected out short after delivery for preparing primary cultures (6h after delivery); or the pups given to surrogate dams pending further experiments. (ii) At P7 and P22 the pups were formalin fixed for immunocytochemical analysis, or keep alive for (iii) electrophysiological or (iv) behavioural analysis at P24, or P90, respectively. We found: (i) At DIV-2-7, a reduction in the number of neurons, neurite length, and pre-synaptic dots in primary cultures from asphyxia-exposed rats. (ii) At P7-22 *in vivo*, a loss of synaptic structure and a decrease in the number of synapses in CA3. (iii) At P24, a reduction of LTP. (iv) Finally, at 3 months, asphyxia-exposed animals showed increased anxiety and decrease of non-spatial memory, compared to the controls. HIF-1alpha inhibition reversed the loss of synaptic contacts, and improved non-spatial memory.

In conclusion, HIF-1alpha inhibition prevented morphological and functional effects associated to perinatal asphyxia, providing a promising neuroprotective strategy.

Acknowledgments: Supported by FONDECYT-Chile (1110263, 1120079, 1110149); Millenium Institute (BNI P09-015-F). ER-M is a CONICYT PhD Fellow. TN-P is a MECESUP (UCH0714) PhD Fellow.

Sponsor: Herrera-Marschitz M.

LA EXPOSICIÓN CRÓNICA DE LA MADRE GESTANTE A ESTRÉS SIMPÁTICO REPROGRAMA EL DESARROLLO FETAL Y LA RESPUESTA A UNA SOBRECARGA SIMPÁTICA DE LA DESCENDENCIA (Chronic exposure to sympathetic stress reprograms fetal development and the response to a sympathetic overload to the adult progeny).

Piquier, B.¹; Fonseca, J.L.¹; Bahamondes, G.¹; Barra, R.¹; Díaz-Araya, G.²; Lara, H.E.¹

¹Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Chile. ²Laboratorio de Farmacoquímica, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Chile (bpiquier@ciq.uchile.cl).

Un estrés crónico que modifique el ambiente fetal puede reprogramar el desarrollo postnatal. Estudiamos el efecto que produce el estrés simpático en ratas gestantes en la concentración de transportadores de NA placentarios (NET), receptores β-adrenérgicos cardíacos y las concentraciones de NA cardíaca de la descendencia. Ratas Sprague-Dawley preñadas fueron expuestas a estrés por frío (4°C/3h/día) durante toda la preñez. Se pesaron las crías y los corazones a diferentes edades (15, 19 días de gestación, 4, 20, 60 días postnatales). Se determinó la concentración de NA plasmática en madres, NET placentarios, receptores β-adrenérgicos (radioligando), actividad de los nervios simpáticos cardíacos (NA, MHPG por HPLC) en la descendencia y el efecto de la estimulación β-adrenérgica (Isoproterenol, 1mg/kg peso/día/10 días) en crías machos adultos. El estrés gestacional aumentó las concentraciones de NA plasmática en madres, disminuyendo la incorporación de ³H-NA por los NET. Prenatalmente, aumentó el peso de las crías y de sus corazones. Las crías hembras -más susceptibles a este estrés- mantuvieron el mayor tamaño de sus corazones a los 20 y 60 días. Esto podría deberse a que el corazón presenta una mayor concentración de receptores β-adrenérgicos cardíacos y un menor recambio de NA. En machos adultos se observa una disminución en la afinidad de estos receptores y una mayor sensibilidad a la estimulación β-adrenérgica *in vivo* presentando una elevada tasa de mortalidad. El estrés prenatal, al aumentar la NA en la circulación fetal, reprograma las crías de manera diferencial entre machos y hembras.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1090036, Beca Doctorado Nacional Conicyt 21120077

Patrocinante: Lara, H.E.

PRESENTACIONES ORALES: COMUNICACIONES LIBRES

MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE UCN2 EN CÉLULAS EPITELIALES DE COLON HUMANO POR DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS* (Modulation of the expression of Ucn2 in human colon epithelial cells by different species of *Lactobacillus*).

González-Arancibia, C.¹; Escobar-Luna, J.¹; Gotteland, M.²; Julio-Pieper M.¹; Bravo J. A.¹.

¹Grupo de NeuroGastroBioquímica, Laboratorio de Química Biológica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. ²Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (camila.gonzaran@gmail.com)

Los lactobacilos son bacterias de la microbiota intestinal, que tienen en su pared celular un componente estructural llamado ácido lipoteicoico (LTA). Este varía según la cepa bacteriana y es capaz de activar al receptor tipo *tol* 2, presente en la superficie de células epiteliales de intestino. Además, las células epiteliales de colon, que están en mayor proximidad con la microbiota, producen neuropéptidos, como el factor de crecimiento nervioso (NGF) y Urocortina 2 (Ucn2), los que modulan la respuesta anti-inflamatoria, la nocicepción visceral y el vaciamiento gástrico. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del LTA purificado de *Bacillus subtilis* (LTA-BS) y de dos cepas distintas de lactobacilos vivos (*L. plantarum* L46-1-12 y *L. casei* L54-2-33) sobre la expresión de neuropéptidos en células Caco-2, línea celular correspondiente a epitelio de colon humano. La estimulación de células Caco-2 con 0,1 µg/ml de LTA-BS disminuye la expresión de mRNA de NGF y Ucn2. *L. plantarum* L46-1-12, a una concentración de 10⁷ UFC/ml, disminuye significativamente la expresión de mRNA de Ucn2, mientras que 10⁵ y 10⁷ UFC/ml de *L. casei* L54-2-33, aumenta de manera significativa la expresión de mRNA de Ucn2. Ninguna de las cepas de lactobacilos tuvo efecto sobre la expresión de mRNA de NGF. Por último, las bacterias inactivadas por calor (80°C por 20 minutos) no estimularon cambios en la expresión de Ucn2 y NGF. Estos resultados sugieren que existe un efecto cepa-específico de lactobacilos en el tipo de modulación de la expresión de neuropéptidos expresados por el epitelio intestinal.

Agradecimientos: PUCV DI 037.386/2014 y Fondecyt 1140776

Patrocinante: Bravo, J.A.

FUNCIÓN DEL RECEPTOR LOX-1 EN LA ANGIOGÉNESIS EN CÁNCER DE PRÓSTATA (Function of LOX-1 receptor in tumor angiogenesis in prostate cancer).

Cerro R.P.¹, González-Chavarría I.¹, Sandoval F.A.¹, Parra N.C.¹, Sánchez O.² y Toledo J.R.¹.

¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. ²Laboratorio de Biofármacos. Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción (ritacerro@udec.cl).

La expresión y función del receptor LOX-1 se asocia a patologías como: disfunción endotelial, aterosclerosis y obesidad. En estas enfermedades la activación del receptor LOX-1 por LDLox, desencadena un aumento del estrés oxidativo, incrementa la generación de moléculas pro-inflamatorias y estimula la angiogénesis. En cáncer, la neo-vascularización es un proceso fundamental para la progresión tumoral, ya que permite el suministro de nutrientes, oxígeno y además, facilita la diseminación de células tumorales a tejidos distantes (metástasis). Estudios recientes demostraron la expresión de LOX-1 en células de cáncer de próstata (CaP) y carcinomas prostáticos humanos en estadios clínicos patológicos III y IV caracterizados por invasión local y un aumento en la vascularización tumoral. Sin embargo, se desconoce si el receptor LOX-1 se relaciona con la activación de procesos angiogénicos en CaP. Nuestro objetivo es analizar la contribución de LDLox/LOX-1 en la angiogénesis tumoral de modelos celulares de cáncer de próstata con sobre-expresión y silenciamiento parcial de LOX-1.

Los resultados demuestran que la activación de LOX-1 por LDLox incrementa la expresión de marcadores pro-angiogénicos como VEGF, MMP-2 y MMP-9. En este sentido se determinó que la expresión de estas moléculas es potenciada en células C4-2/LOX-1 (+) y se previene en el modelo celular C4-2 *knock-down* para LOX-1. La utilización de líneas celulares C4-2/LOX-1(+) y C4-2/LOX-1(-) en *xenografts* sobre membranas corioalantoideas de embriones de pollo, demostraron que LDLox/LOX-1 genera un aumento en la angiogénesis del estroma asociado al tumor y su vascularización.

Agradecimientos: VIU-FONDEF130040; Fondecyt 1121159

Patrocinante: Toledo, J.R.

DESREGULACION EN EXPRESION Y ACTIVACION DE PROTEINAS RELACIONADAS A PLASTICIDAD EN UN MODELO ANIMAL DE AUTISMO (Deregulation in expression and activation of plasticity related proteins in an animal model of autism).

Peralta, F.A., Valencia, M., Estay, S., Santander, O., Aliaga, E.

Laboratorio de Neurociencias, Escuela de Kinesiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (francisco.andres.peralta@gmail.com)

El Trastorno de Espectro Autista (ASD) es un síndrome que involucra diversas alteraciones neuropsiquiátricas, caracterizadas por dificultades en el lenguaje y la interacción social, acompañadas de intereses restringidos, conductas repetitivas y ansiedad. Estudios en el modelo animal de autismo por exposición prenatal a Valproato de sodio (VPA) muestra una hiperplasticidad probablemente relacionada al sistema glutamatérgico y vías de transducción de señales relacionadas a traducción local de proteínas. Sin embargo, estos estudios son insipientes y poco se sabe de las alteraciones en el hipocampo, región altamente plástica y fundamental para memoria y aprendizaje. Evaluamos la expresión y activación de la Proteína Blanca de Rapamicina (mTOR), Proteína Transformante del Retrovirus Akt-8 (Akt), Kinasa Regulada Extracelularmente (ERK), Kinasa Activada por Ca²⁺/Calmodulina II (CaMKII) y Receptores glutamatérgicos metabotrópicos de tipo 1 (mGluR1a y mGluR5) y ionotrópicos de tipo NMDA (subunidades NR1, NR2A y NR2B) en hipocampo de rata a diferentes estadios del desarrollo en el modelo de autismo (450mg/Kg i.p. de Valproato de Sodio al día E12,5). Los marcadores se detectaron mediante inmunohistoquímica cromogénica y western blot a los días postnatales 9 y 30. El tratamiento prenatal con VPA, produce cambios conductuales en interacción social, ansiedad, conductas repetitivas y actividad locomotora que validan el modelo. Además de alteraciones región específica de la expresión de subtipos de receptores glutamatérgicos en hipocampo, así como también de la kinasa CaMKII junto a la fosforilación de ERK (Thr202-Tyr204) sin observarse diferencias en expresión ni fosforilación de Akt y mTOR. Los resultados permiten visualizar nuevos blancos farmacológicos en autismo.

Agradecimientos: Financiamiento FONDECYT-1110855, VRIEA PUCV 127.708/2014

Patrocinante: Sotomayor Zárate, R.

MODIFICACIONES FARMACOCINETICAS Y EN EL METABOLISMO DE FLORFENICOL INDUCIDAS POR LIPOPOLISACARIDO DE *Escherichia coli*, EN CONEJOS (Changes in the pharmacokinetics and metabolism of florfenicol, induced by the administration of *Escherichia coli* lipopolysaccharide, in rabbits).

Pérez, R.¹, Sepulveda, M.¹, Jeldres, J.¹, Carreta, D.², Burgos, R.², Palma, C.¹

¹Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.

²Instituto de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile (rubperez@udec.cl)

El objetivo fue estudiar los efectos de la respuesta inflamatoria de fase aguda (APR) inducida por lipopolisacárido de *Escherichia coli* (LPS) sobre la farmacocinética y metabolismo del florfenicol (FFC) en conejos. Seis conejos 3,0±0,6 kg de peso (pc), se distribuyeron mediante un diseño cruzado a dos grupos experimentales: Grupo 1 (LPS) tratado con tres dosis IV de 1 ug de LPS/kg previo a la inyección de FFC. Grupo 2 (Control) tratado con volumen equivalente de solución salina (SS); 24 h después de la primera inyección de LPS o SS se administró una dosis IV de 20 mg de FFC/ kg pc. Se extrajeron muestras de sangre previo a la administración de FFC y entre las 0,05-48,0 h pos-tratamiento. las concentraciones plasmáticas de FFC y su metabolito FFC-amina se determinaron por HPLC y se analizaron mediante un modelo farmacocinético no compartimental. En conejos endotoxémicos los promedios de AUC_{0-∞} de FFC (22,9 ± 2,9 µg*h/mL) fueron mayores (P <0.05) que los observados en conejos control (15,7 ± 1,0 µg*h/mL). El clearance total (CL_T) disminuyó desde 1,36 ± 0,162 L*h/kg en el grupo control a 0,91 ± 0,12 L*h/kg en los tratados. Los promedios de AUC_{0-∞} de FFC-amina (4,8 ± 1,5 µg*h/mL) en los conejos endotoxémicos disminuyeron (P <0,05) en comparación con los valores observados en el grupo control (10,9 ± 1,2 µg*h/mL). Resultados demuestran que la APR inducida por LPS en conejos aumenta las concentraciones plasmáticas de FFC debido a una disminución en el CL_T del fármaco.

Agradecimientos: Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT 1130473 - CONICYT-Chile.

RELACIÓN ENTRE LA EXPOSICIÓN DÉRMICA A PESTICIDAS Y ENFERMEDADES CRÓNICAS EN LA COMUNIDAD RURAL DE LA CUENCA DEL LAGO DE TOTA, BOYACÁ, COLOMBIA (Relationship between dermal exposure to pesticides and chronic disease in a rural community of tota lake in colombia).

Bernal-Gómez, B.M. y Lesmes-Fabián, C.A.

Grupo de Investigación biomédica y de patología Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. & Grupo ACBI Ambiental, Civil y Básicas en Investigación, Universidad Santo Tomás, Tunja. (bibiana.bernal@uptc.edu.co*camilo.lesmes@usta.edu.co)

En Latinoamérica las regulaciones sobre el uso apropiado de agroquímicos no son cumplidas estrictamente particularmente en algunos cultivos de subsistencia familiares como son el de la papa y la cebolla larga, lo cual genera un riesgo en la aparición de enfermedades asociadas a toxicidad aguda y crónica. Este estudio tiene como objetivo encontrar la relación entre la exposición dérmica a pesticidas y la prevalencia de estas enfermedades. La metodología ha consistido en la determinación de la cantidad de residuos de pesticidas en la piel basados en datos experimentales utilizando trazadores inocuos fluorescentes y asociándolo a las cifras de morbimortalidad de la zona. Se encontró que para algunos pesticidas como heptacloro E, methiocarb, y mancozeb, entre otros, la exposición total dérmica (residuos en el traje de protección) es de 140,4, 234 y 304,2 mg respectivamente con una transferencia real, que es la cantidad residual del pesticida que sobrepasa el traje de protección de 0,8784, 1,464 y 1,9032 mg en su orden, y de que hay un riesgo de que la exposición a estos pesticidas sea causal, aunque no el único factor, de un incremento local relativo en la morbimortalidad rural por diabetes mellitus tipo II, nefropatía crónica no diabética no hipertensiva, síndrome metabólico y cáncer gástrico. Estos resultados preliminares son útiles para desarrollar e implementar un programa de buenas prácticas agrícolas con el fin de reducir dicha exposición en esa comunidad andina, disminuyendo así el riesgo para la salud de un nivel no medido ni percibido de toxicidad crónica.

Agradecimientos: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, DIN-Uptc. Colciencias-Laspau, Universidad Santo Tomás, Tunja. Sociedad de Farmacología de Chile- Dr. Ramón Sotomayor-Zarate Universidad de Zurich Universidad de Munich.

Patrocinante: Sotomayor-Zárate, R.

PRESENTACIONES EN PANELES: NEUROFARMACOLOGÍA

001. LOS NIVELES EXTRACELULARES DE DOPAMINA Y GLUTAMATO INDUCIDOS POR LA INFUSION DE ANFETAMINA EN EL AREA TEGMENTAL VENTRAL DE RATA DEPENDEN DE LA ACTIVIDAD PKC. ESTUDIO EN RATAS CONTROLES Y TRATADAS REPETIDAMENTE CON ANFETAMINA (Dopamine and glutamate extracellular levels induced by infusion of amphetamine in the rat ventral tegmental area depend on PKC activity. Study in control and amphetamine repeatedly treated rats).

Abarca, J.; Gysling, K.

Núcleo Milenio Estrés y Adicción, Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile (jabarca@bio.puc.cl).

La infusión intra núcleo accumbens (NAcc) de RO-31-8220 [10 uM], inhibidor de proteína quinasa C (PKC), bloquea el aumento en los niveles extracelulares de dopamina (DA) en NAcc inducidos por la infusión de amfetamina intra NAcc (*Vezina et al, Neurosci. Lett. 455,88, 2009*). En el presente trabajo hemos estudiado el efecto de la infusión de RO-31-8220 intra área tegmental ventral (VTA) sobre los niveles extracelulares de glutamato (GLU) y DA inducidos por la infusión intra VTA de amfetamina [30 uM] en ratas controles y tratadas repetidamente con 1,5 mg/kg (intraperitoneal) de amfetamina por 7 días. La infusión de RO-31-8220 en el VTA de ratas controles no modificó los niveles basales de DA y GLU. Sin embargo, RO-31-8220 disminuyó los niveles extracelulares de DA y GLU inducidos por la infusión intra-cánula de amfetamina. En contraste, en las ratas tratadas repetidamente con amfetamina se observó un aumento en los niveles extracelulares de DA concomitante con un menor efecto inhibitorio de RO-31-8220.

Nuestros datos sugieren que en el VTA de ratas controles los cambios neuroquímicos inducidos por amfetamina intra VTA dependen de la actividad de PKC, similar a lo previamente descrito para el NAcc. Además, en ratas tratadas repetidamente con amfetamina, los cambios neuroquímicos inducidos por amfetamina intra VTA son menos sensibles a la actividad de PKC.

Agradecimientos: Financiado por ICM N° P10/063-F y Fondecyt N° 1110392.

002. LA SOBREESTIMULACIÓN DE RECEPTORES PURINÉRGICOS INDUCEN UNA DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN CÉLULAS TRATADAS CON EL PÉPTIDO β-AMILOIDE (Purinergic receptors overstimulation induced mitochondrial dysfunction in cells treated with amyloid beta peptide).

Bastidas C.Y.; Sáez-Orellana F.; Godoy, P.A. Ramírez, A.; González D.; Fuentealba, J. Laboratorio de Screening de Compuestos Neuroactivos, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile (cbastidas@udec.cl).

La disfunción mitocondrial ha sido ampliamente involucrada en la Enfermedad de Alzheimer, y se han propuesto diferentes mecanismos de su participación en los fenómenos neurotóxicos. Estudios previos en nuestro laboratorio demostraron que receptores purinérgicos P2X, estimulados de forma fisiopatológica por ATP, estarían involucrados en el mecanismo de toxicidad del péptido β-amiloide (Aβ). Para estudiar la relación entre estos receptores P2X y la mitocondria (uno de los principales reguladores de Ca²⁺ intracelular), se utilizaron células PC12, transfectadas con la sonda sitio dirigida hacia la mitocondria, Pericam 2mt8RP, y fue posible observar una pérdida en la organización de la red mitocondrial normal, cuando las células son tratadas con Aβ, induciendo una disminución cercana al 51% en la fluorescencia de Pericam. La utilización del antagonista PPADS, el cual es un bloqueador selectivo de receptores purinérgicos P2X, previene casi completamente la caída en la fluorescencia (3%), de forma similar a lo observado con apirasa (24%). Posteriormente, se midió el potencial de membrana mitocondrial con la sonda JC-1 como un parámetro de funcionalidad mitocondrial, corroborándose el efecto preventivo de PPADS.

Estos resultados sugieren que el mecanismo de toxicidad del péptido Aβ se potencia por la sobreactivación de los receptores P2X, que provocan una sobrecarga de Ca²⁺ citosólico y mitocondrial, activando los mecanismos de apoptosis.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 1109091, y 1130747, Bastidas, C. Y. es becaria del Proyecto FONDECYT 1130747.

Patrocinante: Fuentealba, J.

003. ALTERACIONES EN LA RED DE MICROTÚBULOS PRECEDEN A LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR AMINOCROMO (Microtubules network alterations preceding cell death induced by aminochrome).

Briceno, A.; Muñoz, P.²; Brito, P.¹; Salinas, N.¹; Meléndez, C.²; Jaña, L.¹; Díaz, A.¹; Huenchuguala, S.²; Castillo, S.²; Herrera, A.²; Segura-Aguilar, J.²; Paris, I.^{1,2}.

¹Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile. ²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile (andrea.briceno.u@gmail.com).

Existen varias evidencias que postulan a aminocromo como una neurotoxina endógena responsable de la degeneración neuronal observada en la Enfermedad de Parkinson. Aminocromo se forma a partir de la oxidación de dopamina y es el precursor de neuromelanina. Se ha descrito que aminocromo forma aductos con varias proteínas. En este trabajo nosotros estudiamos el efecto de aminocromo en la red de microtúbulos. Los resultados obtenidos *in vitro* mostraron que aminocromo forma aductos con tubulina inhibiendo su polimerización. Igualmente, aminocromo forma aductos con microtúbulos induciendo la despolimerización de ellos. La formación de aductos con tubulina también fue observada *in vivo*. Estos estudios mostraron que aminocromo es tóxico en las células SHSY-5Y donde la muerte celular inducida por aminocromo fue dependiente del tiempo y de su concentración. Cuando las células SHSY-5Y fueron incubadas con aminocromo mostraron la formación de aductos con tubulina y un aumento de tubulina en la fracción soluble lo cual sugiere la despolimerización de microtúbulos. Asimismo, cuando las células SHSY-5Y fueron incubadas con aminocromo durante dos horas, éstas mostraron cambios en su forma celular y un aumento en la expresión de tubulina. Interesante fue observar que los cambios en la forma celular preceden a la muerte celular lo cual indica que eventos tempranos en la red de microtúbulos y en la expresión de proteínas podrían conducir hacia la muerte celular. Por lo tanto, estos resultados sugieren que aminocromo promueve tempranamente alteraciones en la red de microtúbulos afectando la polimerización/despolimerización de ellos induciendo finalmente la muerte celular.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt N° 1120337.

Patrocinante: Mora, S.

004. AMINOCROMO INDUCE CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LOS MECANISMOS DE AUTOFAGIA Y EL CITOESQUELETO (Aminochrome induced changes in gene expression related with autophagy mechanisms and cytoskeleton).

Brito, P.¹; Muñoz, P.²; Salinas, N.¹; Briceño, A.²; Jaña, L.¹; Díaz, A.¹; Huenchuguala, S.²; Meléndez, C.²; Castillo, S.²; Herrera, A.²; Segura-Aguilar, J.²; Paris, I.^{1,2}.

¹Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile. ²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile (patiita.bp@gmail.com).

Aminocromo es descrito como una neurotoxina endógena responsable de la degeneración neuronal observada en la Enfermedad de Parkinson. Estudios mostraron que aminocromo podría alterar los mecanismos involucrados en la eliminación de proteínas y organelos dañados. En este trabajo se estudiaron los cambios en la expresión de genes que participan en la formación y transporte de autofagosoma y agresoma hacia el lisosoma. Los resultados mostraron que las células SHSY-5Y expuestas a aminocromo presentan un aumento tardío en la expresión de ATG3 que no va acompañado de un aumento en la expresión de ATG12 lo cual sugiere que aminocromo podría permitir la formación de LC3-II, marcador de autofagosoma, a través de un mecanismo que no participa Atg12; o podría afectar la formación de LC3-II. Por otra parte, se observó que en presencia de aminocromo aumenta la expresión de HDAC6 y LC3, proteínas que participan en la formación/desplazamiento del agresoma y formación del autofagosoma, respectivamente. Asimismo, también se observó un aumento en la expresión de LAMP1 y LAMP2, ambas proteínas forman parte de la membrana del lisosoma. Por el contrario, aminocromo mostró disminuir tempranamente la expresión de DYNC1H (Dineína) y DCTN1 p150 (Dinactina), las cuales forman parte del complejo Dineína/Dinactina que permite el movimiento de autofagosomas y agresomas hacia el lisosoma. Estos resultados sugieren que la temprana disminución en la expresión de genes que forman el complejo Dineína/Dinactina podría generar un deficiente mecanismo de transporte de autofagosoma y agresomas afectando así la eliminación de proteínas y organelos dañados.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt N° 1120337.

Patrocinante: Mora, S.

005. CARACTERIZACIÓN FARMACOLÓGICA *IN VITRO* E *IN VIVO* DEL AGONISTA SEROTONINÉRGICO 5-HT₂ SUPERPOTENTE 25B-NBOME: MODULACIÓN DE SUS EFECTOS INDUCIDA POR BROMACIÓN AROMÁTICA (*In vitro* and *in vivo* pharmacological characterization of superpotent 5-HT₂ serotonergic agonist 25B-NBOME: modulation of its effects induced by aromatic bromination).

Burgos-Villaseca, J.¹; Klagges-Troncoso, J.¹; Decker, A.²; Navarro, H.²; Brea, J.³; Sáez-Briones, P.¹; Tirapegui, C.⁴; Cassels, B.K.⁴

¹Laboratorio de Neurofarmacología y Comportamiento, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile. ²RTI International, Research Triangle Park, NC, USA. ³Plataforma USEF-CIMUS, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. ⁴Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile (jorge.burgos@umce.cl).

25B-NBOME es un derivado *N*-metoxibencilado del alucinógeno 2C-B. Si bien posee alta afinidad por receptores 5-HT₂ y muy alta potencia *in vivo*, sus relaciones estructura-actividad sólo se conocen parcialmente. En este trabajo se sintetizó una serie de análogos de 25B-NBOME, los cuales fueron evaluados *in vitro* e *in vivo*. La evaluación incluyó la determinación de afinidades por receptores 5-HT_{2A} humanos, determinación de eficacias por movilización de calcio y una caracterización conductual en ratas en modelos de actividad psicomotora espontánea, modificación de ansiedad basal y capacidad de asociación a 1-4 mg/kg *i.p.*

Los derivados *N*-2-hidroxi- y *N*-2-metoxibencilado de 2C-B tienen afinidades y potencias altas ($K_i \approx 1$ nM; $EC_{50} \approx 15$ nM), mientras que los análogos de 2C-H tienen afinidades mucho menores ($K_i \approx 50$ -100 nM) pero mantienen su potencia, siendo todos agonistas totales. La bromación del grupo *N*-bencilo disminuye drásticamente la afinidad y potencia de los derivados de 2C-H, volviéndolos agonistas parciales ($E_{max} \approx 50\%$), mientras que el efecto es menos pronunciado con los de 2C-B, que son agonistas totales. La evaluación conductual muestra correlaciones mixtas entre parámetros conductuales característicos de los psicodélicos (sacudidas de cabeza, locomoción, respuesta condicionada), permaneciendo conservadas en los compuestos *N*-2-hidroxi- y *N*-2-metoxibencilados. Los análogos 5-Br-2-oxibencilados son completamente inactivos en el rango de dosis evaluado. Se infiere que la bromación aromática ejerce efectos moduladores complejos sobre la condición de agonista superpotente los cuales se reflejan a nivel conductual, apoyando la idea que esta serie de compuestos posee propiedades farmacológicas propias respecto de psicodélicos clásicos estructuralmente relacionados.

AgradecimientoS: Proyecto FONDECYT 1110146, DICYT USACH 021401SB.

Patrocinante: Sáez-Briones, P.

006. EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE LA INTERACCIÓN DE SULFATO DE COBRE Y KETAMINA EN LOS TESTS DE FORMALINA INTRAPLANTAR Y OROFACIAL EN EL RATÓN (Antinociceptive effect of copper sulfate and ketamine interaction in intraplantar and orofacial formalin tests in mice).

Cazanga, V.¹, Pelissier, T.¹, López, J.¹, Hernández, A.², Constandil, L.²
¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ²Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile (vicazanga@gmail.com).

Las sales de cobre tienen efecto antinociceptivo en modelos animales. Por otra parte, estudios *in vitro* han mostrado que las sales de cobre inhiben la LTP hipocámpal, sugiriendo que el cobre interactúa con el receptor NMDA. Por esta razón, investigamos si el efecto antinociceptivo del sulfato de cobre (CuSO₄) en el ratón es mediado por el receptor NMDA, utilizando el antagonista del receptor NMDA ketamina como herramienta farmacológica. Se utilizó el test de formalina intraplantar y orofacial en ratones y se evaluó la conducta nociceptiva durante 45 minutos. Tanto la administración de CuSO₄ como ketamina produjeron un efecto antinociceptivo dosis-dependiente. La interacción entre estos dos fármacos se estudió mediante la administración simultánea de proporciones equiefectivas de cada DE₅₀. Con los resultados se construyó un isoblograma, que mostró en efecto supraaditivo (índice de interacción: 0,365) para el test de formalina intraplantar y un efecto aditivo (índice de interacción: 1,254) para el test de formalina orofacial. Al realizar un análisis del grado de paralelismo de las curvas de CuSO₄ y ketamina en el test de formalina intraplantar, las curvas resultaron paralelas con pendientes de 31,8 y 29,7, respectivamente, lo que sugiere la presencia de un mecanismo de acción similar. Para el test de formalina orofacial, en cambio, se obtuvieron curvas no paralelas con pendientes de 47,1 para CuSO₄ y de 39,4 para ketamina, lo que sugiere que los mecanismos de acción antinociceptivos involucrados no son idénticos a nivel trigeminal que a nivel espinal.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Fondecyt N° 1120952

Patrocinante: Pelissier, T.

007. MODELO PARA EL ANÁLISIS EX VIVO DEL SISTEMA NERVIOSO ENTERICO POR INMUNOFLORESCENCIA (Model for the ex vivo analysis of the enteric nervous system by immunofluorescence).

Díaz-Merino, C.¹; Gotteland, M.²; Julio-Pieper, M.¹; Bravo, J.A.¹

¹Grupo de NeuroGastroBioquímica, Laboratorio de Química Biológica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. ² Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago (diazm.camila@gmail.com).

El sistema nervioso entérico (SNE) regula la absorción y secreción de fluidos, la motilidad intestinal, e interactúa con el sistema inmune y enteroendocrino. El SNE se compone de dos plexos ganglionados: mientérico y submucoso. Este último, más próximo al epitelio intestinal, es más sensible a cualquier cambio a nivel luminal y epitelial. En la mayoría de los estudios farmacológicos enfocados en el SNE, el estímulo se aplica *in vivo* o bien *ex vivo* sobre el tejido intestinal completo. Posteriormente se aísla el SNE para evaluar los cambios generados. Sin embargo, en estas aproximaciones es difícil establecer si el estímulo tuvo un efecto directo o indirecto sobre el SNE. El objetivo del presente trabajo fue evaluar si un compuesto farmacológico, aplicado directamente a una preparación *ex vivo* de plexo submucoso de colon de rata, activa neuronas entéricas. Para esto se aisló el tejido submucoso a partir de secciones de colon de rata Sprague-Dawley macho adulta. Las preparaciones de submucosa se incubaron por 2 y 3 horas con forskolina 10 µM o vehículo. Luego, estas preparaciones se fijaron y se analizaron por inmunofluorescencia utilizando PGP 9.5, como marcador neuronal y cFos a nivel nuclear como medida de activación celular. Así, se estableció que forskolina 10 µM a 2 y 3 horas aumentó la señal nuclear de cFos en neuronas submucosas. Lo anterior permite disponer de un modelo *ex vivo* para evaluar la activación directa de neuronas entéricas ante un estímulo farmacológico, lo que resulta valioso desde el punto de vista mecanístico.

Agradecimientos: PUCV DI 037.386/2014, y Fondecyt 1140776

Patrocinante: Bravo, J.A.

008. MODULACIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN TÓNICA Y FÁSICA DE DOPAMINA EN EL NÚCLEO ACCUMBENS DE RATAS POR LA ACTIVACIÓN AGUDA O CRÓNICA DE LOS RECEPTORES OPIOIDE KAPPA Y DOPAMINÉRGICOS D2 (Modulation of tonic and phasic dopamine neurotransmission in the rat nucleus accumbens by acute or chronic kappa opioid and dopamine D2 receptors activation).

Escobar, A.P.^{1,3}; González, M.P.^{1,3}; Fuentealba, J.A.^{2,3}; España, R.⁴ y Andrés, M.E.^{1,3}.

¹Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile. ² Departamento de Química y Farmacia, Pontificia Universidad Católica de Chile. ³Núcleo Milenio en Estrés y Adicción (NEDA) ⁴Department of Neurobiology and Anatomy, Drexel University college of Medicine (adescoba@uc.cl).

La activación repetida de receptores dopaminérgicos D2 (D2R), por su agonista quinpirole (QNP), induce sensibilización locomotora, que es potenciada co-administrando U69593, agonista de receptores opioide kappa (KOR). Ambos receptores se ubican en los terminales dopaminérgicos del Núcleo Accumbens (NAc), donde controlan negativamente la dopamina (DA). Paradójicamente, la activación repetida de KOR disminuye el efecto inhibitorio D2 sobre DA. Nuestra hipótesis sostiene que KOR controla la función del D2R en el NAc, resultando en la potenciación de la sensibilización locomotora. Ratas macho Sprague Dawley se inyectaron cada dos días con U69593 y QNP hasta completar 8 inyecciones. Cuarenta y ocho horas después, experimentos de microdiálisis se realizaron bajo anestesia. Otro grupo de ratas naïve se anestesiaron para experimentos de fast scan cyclic voltammetry (FSCV) o de microdiálisis. Los datos de microdiálisis en ratas naïve indican que la activación aguda de KOR 30 min. antes del QNP, bloquea la inhibición D2 sobre niveles tónicos de DA

estimulados por K⁺. Los datos de FSCV indican que la activación aguda de KOR acelera la disminución inducida por QNP sobre DA fásica. El tratamiento crónico con U69593 más QNP no modifica el control inhibitorio presináptico D2 sobre DA. Nuestros resultados sugieren que la activación aguda KOR afecta en forma diferencial la función del D2R, si éste ha sido activado o no crónicamente y revelan un control indirecto de KOR sobre la función del D2R en el NAc.

Agradecimientos: Financiado por proyecto Fondecyt #1110352 y proyecto MSI # P10/063F.

Patrocinante: Sotomayor-Zárate, R.

009. PERINATAL ASPHYXIA EFFECTS ON MOOD ARE MEDIATED BY HISTAMINE.

Espina-Marchant, P.²; Bustamante, D.²; Valdés, J.L.^{1,3}; Morales, P.²; Herrera-Marschitz, M.^{1,2}

¹Millenium Institute BNI-Chile; Programmes of ²Molecular & Clinical Pharmacology and ³Physiology and Biophysics, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile (espinaapablo@yahoo.com).

Perinatal asphyxia (PA) is associated with neuronal death, memory impairment and high anxiety evaluated at adult stages in rats. Histaminergic (HA) neurons, located in the tuberomammillary nucleus (TMN) of the hypothalamus, project to the whole brain, modulating a broad range of homeostatic functions, such as sleep-wake cycle, thermoregulation, feeding, energy metabolism, as well as memory evaluated by different tests. A direct involvement into mood disorders is still controversial, as well as about the effects of PA on HN and mood. We hypothesize here that PA elicits mood alterations at adult age via HA. Pregnant Wistar rats at the last day of gestation were euthanized and hysterectomised. One or two pups were removed and used as controls and the remaining foetuses in the uterine horns were immersed in a water bath at 37°C for 21 min (asphyxia-exposed rats). At 2-3 months of age, both groups were treated with the H3 antagonist thioperamide or saline, and tested in the modified Forced Swimming Test. In parallel, immunohistochemistry experiments to identify ADA+ cells in the TMN (thus, HA neurons) were performed in both groups. Asphyxia-exposed rats showed increased immobility time and decreased swimming and climbing time. Thioperamide reversed these effects. PA decreased the number of HA neurons in the TMN, suggesting that PA impairs mood at adult ages, an effect mediated by HA.

Acknowledgments: Supported by FONDECYT-Chile (1120079, 1110263); Millenium Institute InitiativeBNI (P09-015-F; Chile). PEM is a CONICYT PhD Fellow. The skilful technical support by Mr Juan Santibanez, Ms Carmen Almeyda is acknowledged.

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

010. EFECTOS FUNCIONALES DE LA INTERACCIÓN ENTRE LA PROTEÍNA PRION Y A β EN LA MEMBRANA CELULAR (Functional effects of interaction between prion protein and β -amyloid peptide in the cell membrane).

Espinoza, M.P.¹; Peters, C.¹; Fernández-Pérez, E.¹; Opazo, C.²; Aguayo, L.G.¹

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. ²Oxidation Biol. Laboratory, Universidad de Melbourne, Melbourne, Australia (marespinozam@udec.cl).

El péptido β -Amiloide (A β) es el componente mayoritario de las placas seniles, reconocidas como el principal marcador histopatológico de la Enfermedad de Alzheimer (EA). Previamente hemos descrito que oligómeros solubles de A β (A β o) se asocian a la membrana neuronal, formando poros que generan influjo de calcio, el cual aumenta la liberación de vesículas sinápticas, produciendo una falla sináptica debido al vaciamiento vesicular. Estudios recientes indican que A β interactúa con diferentes proteínas de membrana, como la proteína prion (PrP), lo cual podría modular la toxicidad ejercida por A β o en la membrana celular. En consecuencia como objetivo principal, se evaluaron los efectos funcionales de la interacción A β -PrP disminuyendo y bloqueando PrP a través del uso de fosfolipasa C (PLC) y anticuerpo anti-PrP (6D11) respectivamente. Los resultados muestran una disminución en la asociación de A β o a la membrana luego de estos tratamientos. Además, datos obtenidos por fluorimetría de calcio, indican que PrP es importante para el incremento en la frecuencia de transitorias de calcio intracelular, inducidos por A β o luego de aplicaciones agudas. Este incremento sería mediado por PrP, al facilitar la perforación de membrana por A β o. Asimismo, con anti-PrP 6D11 fue bloqueada la acción sinaptotóxica de A β o (24 horas), evitando la disminución en los niveles de sinaptofisina inducida por A β o. En conclusión, PrP participaría en procesos de asociación, perforación y sinaptotoxicidad producida por A β o, lo que sugiere un potencial desarrollo farmacológico orientado a bloquear esta interacción, apuntando a su utilización en futuros tratamientos para la EA.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1100502 y N° 1140473.

Patrocinante: Aguayo, L.G.

011. EL TRATAMIENTO TEMPRANO CON VALPROATO DE SODIO PRODUCE UNA HIPERESPUESTA EN LA FOSFORILACION DE 4EBP A LARGO PLAZO EN NEURONAS HIPOCAMPALES EN CULTIVO (Early sodium valproate treatment produces long-term 4EBP phosphorylation hyperresponse in cultured rat hippocampal neurons).

Fuentealba, C.; Valencia, M.; Muñoz, N.; Aliaga, E.

Laboratorio de Neurociencias, Escuela de Kinesiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (Esteban.aliaga@ucv.cl).

El Trastorno de Espectro Autista (ASD) se caracteriza por profundas alteraciones en la sociabilidad, el lenguaje y el procesamiento sensorial, junto a conductas estereotipadas y ansiosas. El modelo experimental mejor validado para esta enfermedad es el tratamiento prenatal con valproato de sodio, en el cual se ha demostrado un síndrome de hiperfuncionalidad neuronal. Por otro lado, varios síndromes genéticos tipo-autista involucran a las quinasas Erk y mTOR, y a la proteína de unión al factor de inicio de traducción eIF4E (4EBP) en esta enfermedad. Para comprender las bases moleculares de la hiperfuncionalidad hemos estudiado el efecto del tratamiento temprano con valproato (5 mM, 12 hr), al día 4 in vitro (DIV4), en la respuesta de la vía Erk/mTOR/4EBP, 7 días después (DIV11), mediante inmunocitoquímica en neuronas embrionarias de hipocampo de rata en cultivo. Las neuronas pretratadas con valproato mostraron una activación de Erk, medida como niveles de p-Erk, porcentualmente equivalente al control tres horas después de un estímulo despolarizante (25mM KCl). Sin embargo, las neuronas pretratadas con valproato mostraron mayores niveles de p-mTOR tres horas después y mayores niveles de p-4EBP seis horas después del mismo estímulo, en contraposición a los controles que no

mostraron activación de mTOR a las tres horas, e incluso evidenciaron una disminución de p-4EBP a las seis horas post-estímulo.

Los resultados sugieren que el tratamiento temprano con valproato condiciona el desarrollo neuronal a un estado de hiperreactividad de la vía mTOR/4EBP, lo cual permite visualizar esta vía como un blanco farmacológico en autismo.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT-1110855, VRIEA PUCV proyecto 127.708/2013

Patrocinante: Sotomayor-Zárate, R.

012. ACCIÓN DE ALFA-SINUCLÉINA INTRACELULAR EN MEMBRANAS DE NEURONAS HIPOCAMPALES (Action of intracellular alpha-synuclein in membranes of hippocampal neurons).

Gallegos, S.; Ramírez, A.; Pacheco, C.; Espinoza, M.P.; Aguayo L.G. Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile (laguayo@udec.cl).

La proteína α -sinucleína (α -syn) es una proteína sináptica que se expresa en todo el sistema nervioso central, y es el principal componente de las inclusiones citoplasmáticas conocidas como Cuerpos de Lewy, uno de los hallazgos histopatológicos presentes en la enfermedad de Parkinson (EP). Esta proteína se agrega formando oligómeros con actividad tóxica causando daño y finalmente muerte neuronal. Varios mecanismos tóxicos se han propuesto para α -syn. Por ejemplo, se reportó la formación de poros en la membrana plasmática por α -syn después de su sobreexpresión, lo que lleva a un aumento en la entrada de moléculas o iones como calcio, el cual está asociado a neurodegeneración. El objetivo de esta investigación es identificar los efectos de α -syn sobre la función celular cuando se aplica α -syn en bajas concentraciones (500 nM) dentro de neuronas hipocámpales. Utilizando registros de patch clamp modalidad célula-completa con α -syn agregada (oligómeros) dentro de la pipeta. Encontramos que la proteína α -syn intracelular produjo un aumento en la frecuencia de las corrientes sinápticas en miniatura, un aumento en la permeabilidad de la membrana, que se traduce en un aumento en los niveles de calcio intracelular: Lo anterior se podría deber al ingreso de calcio a las células mediante un poro en la membrana formado por α -syn. De esta forma se estaría apoyando una acción tóxica de α -syn cuando ésta se asocia y se agrega en membranas, contribuyendo a la neurodegeneración que ocurre en la EP, siendo además un posible blanco para nuevas terapias para esta enfermedad.

Agradecimientos: Financiamiento por proyectos FONDECYT N° 1100502 y 1140473

Patrocinante: Aguayo, L. G.

013. DOSIS BAJAS DICLORVOS POTENCIAN EL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA ESPACIAL EN RATAS JÓVENES (Effects on spatial learning and memory of low doses dichlorvos in young rats).

Gámiz, F.; Pancetti, F.

Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, Chile (fgamiz@ucn.cl).

Diclorvos (DDVP) es un compuesto organofosforado que ha sido utilizado principalmente como potenciador cognitivo y pesticida por su efecto inhibitorio sobre la acetilcolinesterasa (AChE). Sin embargo estudios recientes han demostrado que este fármaco induce efectos positivos sobre la plasticidad sináptica mediante mecanismos alternativos al aumento de acetilcolina. Dosis bajas de DDVP actuarían selectivamente inhibiendo la enzima acilpéptido hidrolasa (ACPH) que sería la responsable de la mejoras en plasticidad neural y desempeño cognitivo. Para probar esta hipótesis administramos bajas dosis de DDVP a ratas Sprague-Dawley de un mes de edad diariamente por 28 días. Posteriormente evaluamos el desempeño en una tarea de aprendizaje y memoria espacial en un laberinto acuático. Se realizó una prueba con plataforma visible, se adquirió la curva de aprendizaje con la plataforma oculta y se realizó un test de memoria en ausencia de la plataforma. También se midieron los niveles de actividad AChE y ACPH en homogenizados de hipocampo. Los resultados muestran que los animales inyectados con dosis bajas de DDVP (0.1 mg/Kg) consiguieron un aprendizaje de la tarea más rápido y eficaz, así como una mejor memoria frente a los animales controles. Por otro lado sólo encontramos inhibición significativa de la actividad ACPH hipocampal pero no en la actividad AChE. Estos resultados confirman que la administración de dosis bajas de DDVP producen una mejora cognitiva a través de mecanismos cerebrales diferentes a la inhibición de AChE, y al mismo tiempo indican que existe una relación entre los niveles de actividad ACPH y las mejoras cognitivas.

Agradecimiento: FONDECYT Nº 3140437 a F.G. y FONDEF D0911057 a F.P.

Patrocinante: Garrido, G.

014. ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN DEL RECEPTOR PURINÉRGICO P2X2 Y LA PROTEÍNA ADAPTADORA FE65 EN UN MODELO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (Research of the interaction between purinergic receptor P2X2 and adaptor protein Fe65 in an Alzheimer's Disease model).

Godoy, P.A.¹; Barra, K.M.²; Ramírez, A.¹; Silva-Grecchi, T.¹; Bastidas C.Y.¹; Fuentes-Villalobos F.²; Castro A.F.²; Fuentealba, J.¹.

¹Laboratorio de Screening de Compuestos Neuroactivos, Departamento de Fisiología. ²Laboratorio de transducción de señales y cáncer, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile (pamegodoyr@gmail.com).

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es caracterizada principalmente por un desbalance en el metabolismo de la proteína precursora amiloide (APP), que da origen al péptido β -amiloide ($A\beta$), el cual provoca adicionalmente a los eventos comúnmente descritos, una fuga de ATP intracelular, que activaría receptores P2X, fomentando el ingreso de Ca^{2+} al interior celular, lo que potenciaría la sobrecarga intracelular de este catión, favoreciendo los efectos tóxicos del péptido $A\beta$. Fe65 es una proteína adaptadora de multidominios que se puede unir a APP, y existe evidencia en relación a que podría afectar el procesamiento de esta proteína. El objetivo de este trabajo fue comprobar mediante estudios de co-inmunoprecipitación, que Fe65 tiene la capacidad de interactuar con el receptor P2X2, y evaluar mediante inmunofluorescencia los cambios en la expresión y colocalización de ambas proteínas tras el tratamiento con $A\beta$. En este trabajo se pudo demostrar que Fe65 interactúa con el receptor P2X2; adicionalmente se observó un aumento en la expresión de este receptor (C: $100 \pm 3\%$, $A\beta$: $130 \pm 7\%$), y un incremento en su colocalización con la proteína Fe65 en tratamientos con $A\beta$ (0,5 μ M, 24 h).

Estos datos sugieren que frente a una mayor interacción de P2X2 con Fe65, APP podría ser más susceptible al procesamiento mediante la vía amiloideogénica.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 1109091, y 1130747, P.A.G. es becaria del Proyecto FONDECYT 1130747.

Patrocinante: Fuentealba, J.

015. EFECTO DEL ANTIDEPRESIVO FLUOXETINA SOBRE LA FUNCIÓN BARRERA DE COLON (Effect of the antidepressant Fluoxetine on the colonic barrier function).

González-Toro, M.P.; González-Arancibia C., Bravo J.A., Julio-Pieper M.

Grupo de NeuroGastroBioquímica, Laboratorio de Química Biológica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (maria.paz.gt@gmail.com).

La función barrera intestinal restringe el paso de contenido luminal hacia la circulación, lo que es mediado por proteínas de unión estrecha presentes en las células epiteliales. Anormalidades en estas proteínas y deterioro en la función barrera intestinal se han observado en pacientes con trastornos gastrointestinales, los cuales según recientes estudios, presentan además alteraciones en la señalización de serotonina (5-HT), importante mediador en la fisiología del intestino. Existe evidencia del empleo de antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) como fluoxetina en trastornos gastrointestinales para aliviar el dolor crónico experimentado. Sin embargo el mecanismo de acción de estos fármacos a nivel intestinal se desconoce y más aún su efecto sobre la función barrera. El objetivo de este trabajo fue evaluar en colon de rata el efecto de fluoxetina sobre 1) la permeabilidad del tejido a una molécula fluorescente de 40 KDa; y 2) la abundancia de la proteína de unión estrecha ZO-1 en el epitelio mediante inmunohistoquímica (IHQ). Para esto, el tejido fue incubado con 0.5; 5 y 50 μ g/ml de fluoxetina durante tres horas. La intensidad de tinción de ZO-1, respecto al control, disminuyó al incubarse con 0,5 μ g/ml de fluoxetina, mientras que la permeabilidad al marcador fluorescente aumentó al emplear una dosis de 50 μ g/ml. Ambos resultados sugieren que fluoxetina produce un deterioro agudo de la función barrera de colon.

Agradecimientos: Fondecyt 1130213

Patrocinante: Julio-Pieper, M.

016. SYSTEMIC SALSOLINOL ADMINISTRATION INDUCES DOPAMINE RELEASE AND LOCOMOTOR ACTIVITY IN NAÏVE UChB RATS.

González-Lira, V., Poniachick, R., Silva, F., Sommer, R., Bustamante, D., Morales, P., Quintanilla, M.E., Herrera-Marschitz, M.

Programme of Molecular and Clinical Pharmacology, Institute of Biomedical Science (ICBM), Faculty of Medicine, University of Chile, Independencia 1027, Santiago, RM, 70000, Chile (vgonzalez@med.uchile.cl).

Ethanol is the most widely drug of abuse in the occidental society, its mechanism of action remains unknown, although it is established that the reinforcing effect of ethanol is conveyed via activation of the mesolimbic dopaminergic system. Acetaldehyde, the first metabolite of ethanol produced by the brain catalase/H₂O₂ system, has been hypothesized to mediate the ethanol reinforcing effects. However, acetaldehyde can react with dopamine to generate 1-methyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (salsolinol), mediated by a non-enzymatic Pictet-Spengler condensation reaction, which could then be able to act on dopaminergic systems, by directly or indirectly mechanisms. In this work, we have studied the effect of salsolinol on dopaminergic systems, measuring dopamine release in NAcc *shell* of naïve UChB rats by microdialysis *in vivo* under awake condition. The results show that salsolinol (10 mg/kg, i.p.) increased dopamine release in NAcc *shell* (119.8% ±3.5% from baseline; p<0.01, n=5), observed 20 minutes post-administration. Salsolinol did not alter the effect of d-amphetamine (100µM via the probe; dopamine increased by ~2.5 fold) or KCl (100nM via the probe; dopamine increased by ~2.5 fold) 120 or 200 min after salsolinol administration, respectively. Furthermore, salsolinol increased locomotor activity at the first 20 min after administration, indicating a temporal relationship between dopamine release and locomotor activity. Thus, the present results demonstrate that salsolinol is capable to activate the mesolimbic dopaminergic system similarly to ethanol and acetaldehyde, but at doses several times lower.

Acknowledgement: CONICYT-Chile (Doctoral fellowship to González-Lira V., folio: 21080344); FONDECYT (112079; 1130012).

017. RGS2 protein levels increased in mesencephalic tissues in 6-OHDA lesioned rats.

Gutiérrez-Hernández, M.A.^{1,2,3}, Neira-Peña, T.^{2,3}, Bustamante, D.², Morales P.², Cassels, B.K.⁴, Herrera-Marschitz, M.^{1,2}.

¹Milenium Institute BNI-Chile; ²Programme of Molecular & Clinical Pharmacology, ICBM, Medical Faculty, University of Chile, Santiago, Chile; ³Department of Chemical-Biological Science, University Bernardo O'Higgins, and ⁴Chemical Biodynamic Laboratory, Faculty of Sciences, Institute for Cell Dynamics and Biotechnology, University of Chile, Santiago, Chile. (manugut@med.uchile.cl).

Regulators of G Protein Signalling (RGS) proteins act as GTPase-activating protein (GAP), modulating negatively G protein-coupled receptors, including D₁ and D₂ receptors. The present work focuses on the effect of dopamine de-afferentation on the levels of RGS2, RGS4 and RGS9-2 proteins in substantia nigra (SN), ventral tegmental area (VTA), nucleus accumbens (NAc), neostriatum (Str) and neocortex (Cx) of rats. The lesion was performed by a unilateral stereotaxic administration of 6-OHDA (2µg/ml) into the left forebrain bundle, considering the right hemisphere as a control. Fifteen days after, the animals were behaviourally evaluated, and sacrificed for further analyses. RGS proteins, dopamine receptors and tyrosine hydroxylase (TH) were measured by Western blots and immunohistochemistry (n=5-7). TH levels were significantly decreased in SN, VTA and Str on the lesioned compared to the non-lesioned hemisphere. There was also a decrease in the number of TH-positive neurons in SN, and VTA. D₁ receptor levels were increased in SN and VTA, while D₂ receptor levels were increased in SN and Str. RGS2 protein levels were increased in SN and VTA.

No significant changes were observed in RGS4 and RGS9-2 levels. The present results suggest that RGS2 protein modulates DA signalling, via D₁ receptors.

Acknowledgement: Supported by Institute Millennium-BNI (BNI P09-015-F) and FONDECYT (N°1120079,1110263) grants. MAGH is BNI and a CONICYT (N° 21080079) fellow.

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

018. EFECTO DE LA MOLÉCULA PEQUEÑA M554 EN LA LIBERACIÓN DE VESÍCULAS SINÁPTICAS MEDIADA POR EL HETERODÍMERO Gβγ (Effect of small molecule M554 in the release of synaptic vesicles mediated Gβγ heterodimer).

Hernández, T.; Nova, D.; González, L.; San Martín, L.; Fuentealba, J.; Guzmán, L.

Laboratorio de Neurobiología Molecular, Departamento de Fisiología, Facultad de ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile (taniahndz@gmail.com).

El tráfico de vesículas sinápticas en terminales sinápticos es un proceso estrechamente relacionado a la actividad neuronal individual y de la red. En la presinápsis, el complejo SNAREs (syntaxina, SNAP-25 y sinaptobrevina) media la fusión de las vesículas sinápticas calcio-dependiente. Este proceso es inhibido por la actividad de receptores acoplados a proteína G (GPCRs), que al activarse provocan la disociación del heterotrímero de la proteína G liberando el dímero Gβγ, el cual interacciona directamente con la región c-terminal de la proteína SNAP-25. El uso de fluoróforos FM, ha ayudado a la comprensión de este proceso, ya que permite la monitorización óptica del movimiento vesicular. En este trabajo, se evaluaron los efectos que tienen etanol y una molécula pequeña M554, diseñada con métodos bioinformáticos, en la vía de liberación de vesículas mediada por Gβγ. M554 interacciona con Gβγ en el sitio de unión asociado a la modulación del receptor de glicina. Se utilizaron neuronas de hipocampo de rata, las cuales se incubaron con la sonda FM 1-43, en presencia y ausencia de M554. La disminución de fluorescencia, indicativa de fusión vesicular en la presinápsis, se observó por microscopía, bajo diferentes condiciones estimulantes e inhibitorias, como solución externa alta en potasio y etanol respectivamente. Los resultados sugieren que el tráfico vesicular disminuye con la adición de etanol, y M554 no tendría efecto sobre la inhibición pre-sináptica mediada por el dímero Gβγ.

Agradecimientos: Financiado por Fondecyt N° 1131004, IDeA CA12i10280.

Patrocinante: Fuentealba, J.

019. ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBINANTE DE BAJO NIVEL DE GLICOSILACIÓN, TIENE EFECTO NEUROPROTECTOR ASOCIADO A SU RECEPTOR MEDIANTE LA ACTIVACIÓN DE VÍAS ANTIAPOPTÓTICAS (Human recombinant erythropoietin with low glycosylation level has neuroprotective effects associated to its receptor through the activation of antiapoptotic signaling pathways).

Hidalgo, A.; Castillo, C.; Zaror S.; Sotomayor, K.; Fuentealba, J.; Montesino, R.; Toledo, J.

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile (angehidalgo@udec.cl).

La Eritropoyetina (Epo) es una hormona glicoprotéica de aproximadamente 34kDa, cuya función principal es regular la hematopoyesis. Sin embargo, debido al descubrimiento de su receptor (EpoR) en tejidos no eritroides, se ha asociado esta hormona a otras funciones pleiotrópicas. En el sistema nervioso central (SNC), se observó que Epo tiene efecto neuroprotector relacionado con la activación de vías de señalización antiapoptóticas asociadas a su receptor. El objetivo de este trabajo es evaluar si la actividad neuroprotectora *in vitro* de una Epo recombinante humana de bajo nivel de glicosilación (rhEpo) y con reducida actividad hematopoyética, producida en leche de cabra, está asociada a la activación de EpoR. Para desarrollarlo, se utilizaron células PC12, pretratadas con Epo y posteriormente incubadas con un desacoplante de la cadena respiratoria mitocondrial (FCCP), como modelo de estrés oxidativo. Las células pretratadas con Epo presentaron mayor porcentaje de viabilidad comparadas con células control que no fueron incubadas con Epo, y también respecto a células PC12 tratadas con inhibidores de la activación del receptor de Epo. Estos resultados concuerdan con diferencias observadas en la expresión de EpoR, y con la activación de vías de señalización antiapoptóticas, mediadas por el aumento en la expresión del gen BCL2. Los resultados de este trabajo demuestran que rhEpo posee actividad neuroprotectora frente a estrés oxidativo mediado por FCCP, activando vías de señalización antiapoptóticas, a través de su receptor EpoR. Este hallazgo refuerza el potencial uso farmacológico de esta variante de rhEpo en enfermedades relacionadas con el SNC, como enfermedades neurodegenerativas.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Innova N° 13IDL218688.

Patrocinante: Toledo, Jorge R.

020. DISEÑO DE NUEVOS BIARIL DERIVADOS DE TRIPTAMINA COMO BLOQUEADORES DEL TRANSPORTADOR DE SEROTONINA (Design of novel biaryl triptamin derivatives as serotonin transporter blockers).

Iturriaga-Vásquez, P.¹, Molina, J.¹; Quiroz, G.^{1,2}; Guerra, N.¹; Reyes-Parada, M.³; Sotomayor-Zarate, R.⁴

¹Laboratorio de Química Medicinal y Farmacología Molecular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ²Programa de Doctorado en Farmacología, Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. ⁴Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile (iturriag@uchile.cl).

Los transportadores de serotonina (SERT) han sido involucrados como objetivo biológico en el diseño de drogas con potencial actividad antidepressiva, usando como modelo la existencia de anillos aromáticos presentes en las estructuras de diferentes antidepressivos que se unen a SERT y tomando la triptamina como un análogo de serotonina, en el siguiente trabajo nos propusimos generar derivados de triptamina regulando la separación de los anillos aromáticos a través de una cadena alquílica de 1, 3 y 5 átomos de carbono. Además generamos derivados con la triptamina directamente unida a través de su nitrógeno primario a la

cadena alquílica y utilizando anhídrido maleico, como espaciador, generamos una serie de moléculas que nos permitirán evaluar su capacidad de ser reconocidas por el SERT. Nuestros resultados indican que las moléculas con los anillos separados por 3 y/o 5 átomos de carbono presentan mejor afinidad. Por otro lado la presencia del espaciador de maleato aumenta su afinidad respecto de aquella sin espaciador. Los análisis de anclaje molecular (docking) indican que aquellas moléculas que contienen al espaciador maleato se unen en el mismo sitio de los bloqueadores de SERT tal como lo es Flouxetina y Citalopram, localizando el anillo indólico de la triptamina en la cavidad de entrada del transportador sitio de reconocimiento molecular de la serotonina. Los datos de energías de unión correlacionan con los resultados de binding obtenidos donde el derivado con 5 átomos de carbonos entre los anillos y el espaciador maleato en la triptamina posee la mayor afinidad en el rango nanomolar.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1130185 (MRP) y N° 11121205 (RSZ), Beca Conicyt Doctorado Nacional (GQ)

Patrocinante: Iturriaga-Vásquez, P.

021. EFECTO DEL COBRE Y AMINOCROMO EN LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS QUE PARTICIPAN EN LOS SISTEMAS DE PROTEÓLISIS INTRACELULAR (Effect of copper and aminochrome in the proteins expression that participate in the intracellular proteolysis systems).

Jaña, L.¹; Delgado, M.¹; Muñoz, P.²; Briceño, A.²; Arévalo, M.³; Brito, P.¹; Salinas, N.¹; Díaz, A.¹; Meléndez, C.²; Huenchuguala, S.²; Castillo, S.²; Herrera, A.²; Díaz-Véliz, G.²; Mora, S.²; Segura-Aguilar, J.²; Paris, I.^{1,2}

¹Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile. ²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. ³Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile (i.aliaga.lya@gmail.com).

La Enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo que se caracteriza por una pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta. Agentes medioambientales como la exposición a ciertos metales, como el cobre, podrían estar relacionados con el desarrollo de esta patología. En otros trabajos se ha mostrado que la toxicidad de este metal es dependiente de la formación de un complejo con dopamina (CuDA) y la oxidación de dopamina a aminocromo. Recientemente, se reportó que el complejo CuDA induce autofagia y aminocromo induce disrupción del citoesqueleto sugiriendo que aminocromo podría jugar un rol en la disfunción de los sistemas de degradación de proteínas observados en la EP. Este trabajo busca demostrar que la toxicidad del cobre y aminocromo están relacionadas con alteraciones y cambios en la expresión de proteínas que participan en los mecanismos de eliminación de proteínas como la vía autofagia/agresoma. Para ello se utilizaron como modelos: una línea celular SH5Y-5Y derivada de neuroblastoma humano y cortes de cerebro de ratas para sustancia negra y cuerpo estriado. Los resultados mostraron que los mayores efectos tóxicos fueron obtenidos cuando las células se incubaron con el complejo CuDA o aminocromo. Asimismo, los resultados mostraron que cobre y aminocromo inducen significativos cambios en la expresión de proteínas como β -III tubulina, α -tubulina acetilada, HDAC6 y LAMP1. Estos resultados sugieren que cobre y aminocromo podrían cambiar la expresión de proteínas que participan en las vías de degradación de proteínas y organelos dañados y que mecanismos compensatorios podrían estar participando.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Universidad Santo Tomás N° N000012858, Fondecyt N° 1120337 y Fondecyt N° 1100165.

022. SITIOS MOLECULARES ASOCIADOS A LA MODULACIÓN DE RECEPTORES DE GLICINA POR ANÁLOGOS DE PROPOFOL (Molecular sites for glycine receptor modulation by propofol analogs).

Lara-Sanhueza, C.¹; Burgos, C.F.¹; Fuentealba, J.P.²; Yévenes, G.E.¹.

¹Laboratorio de Neurofarmacología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. ²Laboratorio de Screening de Compuestos Neuroactivos, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile (cesar.larasanhueza@gmail.com).

Los receptores de glicina (GlyRs) son canales iónicos ligando-activados que contribuyen al control de la excitabilidad neuronal. La función inhibitoria del GlyR es particularmente crítica en el procesamiento de señales sensoriales y nociceptivas en la médula espinal. Estudios recientes han determinado que estados de inflamación periférica disminuyen la función de los GlyRs espinales compuestos de la subunidad $\alpha 3$, lo que contribuye a la generación de dolor crónico. De este modo, fármacos potenciadores de los GlyRs espinales podrían tener efectos analgésicos. Sin embargo, se conocen pocos moduladores del GlyR y los sitios moleculares involucrados en estos efectos no se encuentran determinados. En este trabajo investigamos los sitios moleculares asociados a la modulación de $\alpha 3$ GlyRs por el análogo de propofol 2,6-DTBP (2,6-di-*tert*-butilfenol). La sensibilidad de $\alpha 3$ GlyRs a 2,6-DTBP fue evaluada a través de electrofisiología de GlyR salvajes y mutantes expresados en células HEK293. Nuestros resultados muestran que 2,6-DTBP (1-300 μ M) es un modulador alostérico positivo de $\alpha 3$ GlyRs. El compuesto aumentó la afinidad aparente del receptor por su agonista glicina, sin cambios en la eficacia. Además, estudios de modelamiento molecular combinados con registros de GlyRs mutados permitieron identificar un residuo conservado de fenilalanina necesario para los efectos de 2,6-DTBP en el comienzo del dominio transmembrana 4. Nuestros resultados demuestran que 2,6-DTBP es un modulador positivo del $\alpha 3$ GlyR, el cual posiblemente interacciona en una región asociada al dominio transmembrana 4 del receptor. La caracterización detallada de esta interacción a nivel molecular podría contribuir al desarrollo de nuevos moduladores del GlyR.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1140515 (a G.E.Y.) y FONDECYT 1130747 (a J.P.F.).

Patrocinante: Fuentealba, J.

023. NITRIDERGIC AND OPIOIDERGIC PATHWAYS IN THE GABAPENTIN INDUCED ANTINOCICEPTION IN OROFACIAL FORMALIN TEST OF MICE.

Miranda, H.F.^{1,2}; Sierralta, F.³; Zanetta, P.¹; Noriega, V.¹; Prieto, J.C.^{2,4}

¹Faculty of Medicine, Chemistry and Pharmacology School, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. ²Faculty of Medicine, ICBM, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Dental School, Universidad FinisTerra, Santiago, Chile. ⁴Hospital Clínico, Universidad de Chile, Santiago, Chile (hmiranda@med.uchile.cl)

Pain is one of the most common problems in clinical medicine. It has been considered that pharmacologic drug therapy approaches are the most widely used therapeutic options to ameliorate persistent or chronic pain. However, the mechanisms of chronic pain are much more complex than those of acute pain. In this study it was evaluated the effect of L-Name and naltrexone in the antinociception induced by administration of gabapentin in the orofacial formalin test of mice. The algometer assay was performed by the administration of 20 μ l of 2% formalin solution injected into the upper right lip of each mouse. The dose of gabapentin that produces the 50% of the maximum possible effect (ED₅₀) was significantly increased by the pretreatment with L-Name or naltrexone. These results suggest that gabapentin produce peripheral effect is mediated partly via the activation nitridergic pathways and opioid system.

Acknowledgments: Project DI-Nº 76-12/CB from Universidad Andres Bello.

024. ESTUDIO COMPARATIVO DE PARÁMETROS ELECTROCARDIOGRAFICOS Y ELECTROLITOS PLASMATICOS EN CERDOS (*Sus scrofa doméstica*) SOMETIDOS A ANESTESIA INHALATORIA ISOFLUORANO/OXÍGENO CON Y SIN LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ALCOHOL (Comparative study of electrocardiographic parameters and plasma electrolytes in porcine model (*Sus scrofa domestica*) anesthesia isofluorane/oxygen with and without acute alcohol administration).

Montero, E.¹; Aranguiz, M.¹; Avendaño, C.¹; Contreras, E.²; Sepúlveda, M.J.³

¹Facultad Medicina Veterinaria. Universidad San Sebastián. Concepción. Chile. ²Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Concepción. Chile. ³Facultad de Medicina. Universidad U.S.C.S. Concepción. Chile (edson.montero@uss.cl).

El binomio alcohol-conducción aumenta la accidentabilidad y lesionados que requieren cirugía inmediata. No hay estudios que recomienden protocolos anestésicos seguros. Se realizó un estudio clínico controlado en un modelo porcino con el objeto de determinar si los parámetros electrocardiográficos y electrolitos plasmáticos se modifican por acción del alcohol. Se emplearon 9 cerdos, Landrace-Largewhite, ASA 1, de peso promedio, 13 kg. Éstos se pre-medicaron con Ketamina-Diazepam. El estudio se desarrolló en dos períodos anestésicos similares (40 min.) con Anestesia Inhalatoria espontánea (VIMA). En el primer período se sometió a inducción anestésica con máscara a la asociación Isoflurano/Oxígeno (I/O) y dosis de mantención I/O 2%/2L.min⁻¹. En el segundo período, luego de un wash-out de 3 días, se administró el mismo protocolo anestésico del 1^{er} tiempo del estudio con una administración de alcohol 96^o diluido al 50% y una dosis 250 mg.kg⁻¹. Se obtuvo ECG: Frecuencia cardiaca, intervalos PR, QT y QT_c, complejo QRS y segmento ST, junto a electrolitos plasmáticos: Na⁺, K⁺, Cl⁻ y Bicarbonato de una muestra de sangre arterial en el minuto 0, 20 y 40. El análisis estadístico fue test de Student. Nuestros resultados indicaron que durante la administración de VIMA I/O con alcohol disminuye la frecuencia cardiaca, concentraciones K⁺ y Cl⁻ plasmáticos, respecto del control. No hubo diferencias significativas entre ambos períodos anestésicos para el resto de los parámetros estudiados. Los tiempos de inducción y recuperación anestésica tampoco experimentaron diferencias significativas entre los períodos analizados. Se concluye que VIMA I/O produce una anestesia estable en presencia de alcohol.

Agradecimientos: Proyecto USS2011-00007-R

025. CHARACTERIZATION OF NANOPARTICLES FOR SYSTEMIC DELIVERY OF PARP-1 siRNA: A NEW THERAPEUTIC STRATEGIC FOR PREVENTING THE CONSEQUENCES OF PERINATAL ASPHYXIA.

Muñoz-Vio, V.J.^{1,2}; Riveros, A.²; Neira-Peña, T.¹; Bustamante, D.¹; Morales, P.²; Kogan, M.J.²; Herrera-Marschitz, M.¹

¹Millenium Institute BNI-Chile; *Programme of Molecular & Clinical Pharmacology, ICBM*, Medical Faculty. ²Laboratory of Nanotechnology and Nanotoxicology, Department of Toxicology, Chemistry and Pharmaceutical Sciences Faculty, University of Chile, Santiago, Chile (vale.munoz.vio@gmail.com).

Perinatal asphyxia (PA) is a clinical challenge still lacking for an effective treatment. Hypoxia implies a shift to anaerobic glycolysis, leading to accumulation of lactate and acidosis. Re-oxygenation is mandatory for recovering, yielding oxidative stress, free radical accumulation and pro inflammatory signalling, delaying recovery and full homeostasis. The insult menaces the integrity of the genome, triggering protecting and repairing metabolic cascades, PARP-1 playing a fundamental role. Nevertheless, PARP-1 activation leads to ATP over consumption, worsening the energetic crisis. Therefore, inhibition of PARP-1 activity is a target for lessening the effect of hypoxia. Gold nanoparticles have been used for siRNA delivery for selective gene expression inhibition. Thus, gold nanorod (AuNR) functionalized with CLPFFD peptides were prepared as AuNR-siRNA complex, evaluated in SH- SY5Y neuroblastomes with confocal microscopy and MTS assay, finding that the complexes are well internalised without any apparent cell-toxicity.

Acknowledgments: Supported by Millenium Institute (BNI P09-015-F); CONICYT-Anillo ACT-95; FONDECYT-Chile (1120079; 1130425; 1110263), FONDAP 15130011. VJM-V and TN-P are MECESUP (UCH0704) and MECESUP (UCH0714) PhD fellows.

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

026. NICOTINAMIDE PREVENTS PARP-1 ACTIVITY AND NEUROINFLAMMATORY SIGNALS LEADING TO DELAYED CELL DEATH IN RAT MESENCEPHALON FOLLOWING SEVERE PERINATAL ASPHYXIA.

Neira-Peña, T.^{1,3}; Rojas-Mancilla, E.^{1,3}; Muñoz, V.¹; Bustamante, D.¹; Gebicke-Haerter, P.⁴; Morales, P.²; Hermoso, M.A.²; Herrera-Marschitz, M.¹

¹Millenium Institute BNI-Chile, Programmes of Molecular & Clinical Pharmacology; ²Immunology, ICBM, Medical Faculty, University of Chile, Santiago, Chile; ³University Bernardo O'Higgins, and ⁴Dept. of Psychopharmacology, Central Institute of Mental Health J5, Mannheim, Germany (tanyaneira@gmail.com).

Perinatal asphyxia (PA) is a leading cause of death, neuronal damage and neurological deficits with a delayed clinical onset. Hypoxia and re-oxygenation lead to inefficient anaerobic metabolism and oxidative stress, causing DNA damage. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) is a sentinel protein that recruits the DNA repair machinery; however PARP-1 over-activation can increase inflammatory signalling pathways, conveyed by NF- κ B (p65), leading to neuro-inflammation. Thus, we investigated PARP-1 and inflammatory responses, and its implications in apoptotic-like cell death in mesencephalon following PA. Severe PA in rats was induced by immersing G22 fetuses into a water bath at 37°C for 21 min. Animals were sacrificed 0-24h after delivery and mesencephalon and other brain regions dissected. PARP-1 activity and p65 activation was measured by Western blots; synthesis of proinflammatory cytokines by RT-qPCR, and ELISA, and apoptotic-like cell death by the TUNEL assay. A single dose of nicotinamide (a PARP-1 inhibitor) (0.8 mmol/kg, i.p.), was administered 2h following PA and the same parameters were further evaluated. PA increased PARP-1 activity and inflammatory signalling pathways, increasing pro-inflammatory cytokines, and apoptotic-like cell death, both in VTA and SN. A single dose of nicotinamide decreased PARP-1 activity, decreased the levels of the inflammatory markers and apoptotic-like cell death.

Thus, the present results show that PA leads to (i) over-activation of PARP-1; (ii) activation of inflammatory signalling mediated by p65; (iii) *de novo* synthesis of pro-inflammatory cytokines, and (iv) delayed cell death. All these events were reverted with a single postnatal dose of nicotinamide.

Acknowledgements: Supported by Millenium Institute (BNI P09-015-F). FONDECYT-Chile 1120079; 1080447 (MHM), 11060433 (PMR), 1120557 (MAH); TN-P is a MECESUP (UCH0714) PhD Fellow; ER-M is a CONICYT PhD Fellow; VM is a MECESUP (UCH0704) PhD Fellow. The excellent technical support from Mr Juan Santibañez and Ms Carmen Almeyda is acknowledged.

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

027. ISOBOLOGRAPHIC ANALYSIS OF THE OPIOID-OPIOID INTERACTIONS INDUCED NOICEPTIVE PAIN OF MICE.

Noriega, V.²; Miranda, H.F.^{1,3}; Zanetta, P.³; Prieto, J.C.^{2,3}; Prieto-Rayó, J.C.³; Aranda, N.³; Sierralta, F.^{3,4}

¹Faculty of Medicine, School of Pharmacy, Universidad Andrés Bello. ²Cardiovascular Department, Hospital Clínico, Universidad de Chile. ³Pharmacology Program, ICBM, Faculty of Medicine, Universidad de Chile. ⁴Faculty of Odontology, Universidad Finis Terrae (vnoriega@cig.uchile.cl).

Opioids have been used for the management of pain for a long time, and coadministration of two opioids may induce synergism. In a model of tonic pain, the acetic acid writhing test and in a phasic model, the hot plate, the antinociceptive interaction between fentanyl, methadone, morphine, and tramadol was evaluated. The rank of potency of opioids in the writhing test compared to the hot plate assay was from 2.5 (fentanyl) to 15.5 (morphine) times, respectively. The ED50 was used in a fixed ratio for each of the six pairs of opioid combinations, which, resulted in a synergistic antinociception with the exception of methadone/tramadol and fentanyl/tramadol which were only additive, in the hot plate. Using the opioid antagonists naltrexone, naltrindole and nor-binaltorphimine, suggests that the synergism induced by morphine combinations are due to the activation of MOR subtypes with a partially contribution of DOR and KOR subtypes, however fentanyl and methadone combinations are partially due to the activation of MOR and DOR subtypes and KOR subtypes lack of participation. The mixtures of tramadol, are partially due to the activation of MOR, DOR and KOR opioid subtypes. These results indicate that the effectiveness and magnitude of opioids interactions are dependent on the intensity of the pain stimulus. Opioid-opioid combinations may be helpful in pain treatment, given the profile of activity of individual drugs and the advantages of reducing side effects.

Acknowledgments: Project DI-Nº 76-12/CB from Universidad Andres Bello.

028. EFECTO DE PEQUEÑAS MOLÉCULAS EN LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE PLC β MEDIADA POR EL DÍMERO G $\beta\gamma$ (Effect of small molecules in PLC β pathway mediated by G $\beta\gamma$ dimer).

Nova, D.; Hernández, T.; San Martín, L.; González, D.; Guzmán, L.

Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción. (daninovabaza@gmail.com).

El heterodímero G $\beta\gamma$ posee una gran cantidad de efectores celulares, lo que lo convierte en un potencial blanco terapéutico para una variedad de enfermedades. Estudios previos han demostrado que etanol induce la potenciación del receptor de glicina (GlyR) a través del dímero G $\beta\gamma$, llevando a una depresión del sistema nervioso central. Estos efectos depresores pueden causar la muerte por una falla cardiorrespiratoria durante una intoxicación aguda por etanol. Estudios previos en nuestro laboratorio han demostrado que pequeñas moléculas diseñadas en nuestro laboratorio por métodos bioinformáticos como M554 y M890 interfieren en la potenciación del GlyR por etanol. En este trabajo se determinó el efecto de estas moléculas en otra vía de señalización mediada por el dímero G $\beta\gamma$, como es PLC β . Para esto se utilizaron células HL-60 diferenciadas a neutrófilo (HL-60 1,2% DMSO por 72 hrs.), las cuales fueron estimuladas con el péptido quimiotáctico fMLP (N-formil-metionil-leucil-fenilalanina) que activa la vía PLC- β_2 , lo que lleva a un aumento del Ca²⁺ citosólico. Los cambios en los niveles Ca²⁺ citoplasmático se determinaron a través de la sonda fluorescente sensible a calcio Fluo-8 en un espectrofluorímetro (NOVOSTAR). Los resultados demostraron que la molécula M554 y M890 no inhiben esta vía de señalización, lo que demuestra que el heterodímero se une a G $\beta\gamma$ sitio-específicamente siendo potenciales moléculas líderes de nuevos estudios farmacológicos.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 1131004, IDeA CA 12i10280.

Patrocinante: Fuentealba, J.

029. EFECTOS DEL HIERRO Y AMINOCROMO EN LA RED DE MICROTÚBULOS Y MICROFILAMENTOS (Effects of iron and aminochrome in the network of microtubules and microfilaments).

Paris, I.^{1,2}; Briceño, A.²; Muñoz, P.²; Arancibia, S.¹; Heim, A.¹; Cornejo P.³; Gutiérrez, A.⁴; Bernal, G.⁵; Jaña, L.¹; Brito, P.¹; Salinas, N.¹; Díaz, A.¹; Meléndez, C.²; Huenchuguala, S.²; Castillo, S.²; Herrera, A.²; Segura-Aguilar, J.²

¹Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile. ²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. ³Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Salud y Odontología, Universidad Diego Portales, Chile. ⁴Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, Viña del Mar, Chile. ⁵Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, Chile (iparis@santotomas.cl).

En la enfermedad de Parkinson (EP) se observa un deterioro de la vía nigrostriatal con pérdida selectiva de las neuronas dopaminérgicas que contienen neuromelanina en la sustancia negra pars compacta (SNpc). Se ha observado que las neuronas dopaminérgicas de la SNpc presentan acumulación de hierro y cuerpos de Lewy que contienen en su interior agregados de proteínas. Estudios realizados previamente mostraron que la toxicidad del hierro es mediada por la oxidación de dopamina a aminocromo. Recientes estudios mostraron que aminocromo induce la formación de agregados de actina y α - y β - tubulina. En este trabajo se estudió si el complejo FeDA induce efectos tóxicos en las células SHSY-5Y. Además se estudió *in vitro* si el complejo FeDA y aminocromo podrían alterar la polimerización de tubulina y actina. Los resultados mostraron que FeDA es tóxico en las células SHSY-5Y y que FeDA y aminocromo afectan la polimerización de tubulina y actina. Por lo tanto, los resultados sugieren que las alteraciones en la polimerización de actina y tubulina podrían afectar no sólo los mecanismos de eliminación de proteínas y organelos dañados, sino que también el transporte y liberación de vesículas sinápticas.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Universidad Santo Tomás N° 0000016012 y Fondecyt N° 1120337.

Patrocinante: Mora, S.

030. VULNERABILITY TO POSTNATAL METABOLIC INSULTS AFTER PERINATAL ASPHYXIA: EFFECTS ON CELL SURVIVAL AND NEURONAL APOPTOSIS IN A TRIPLE ORGANOTYPIC CULTURE MODEL OF RAT BRAIN.

Pérez-Lobos, R.²; Palacios, E.²; Symon, A.²; Bustamante D.²; Morales, P.²; Herrera-Marschitz, M.^{1,2}

¹Millenium Institute BNI-Chile; ² Programme of Molecular & Clinical Pharmacology, ICBM, Medical Faculty, University of Chile (ronald.perezlobos@gmail.com).

Perinatal asphyxia (PA) implies an interruption of oxygen supply at birth, changing the ability of the CNS to cope with postnatal stressors. The mechanism by which PA impairs the coping capacity of the CNS is unknown, but aberrant metabolism can play a role, making it vulnerable to further energy failure and oxidative stress, enhancing pro-apoptotic pathways. Nevertheless, the relation between PA and vulnerability to secondary metabolic insults has not yet been studied. We have investigated on the vulnerability of PA exposed CNS to subsequent metabolic insults, using organotypic cultures of basal ganglia, including substantia nigra (SN), neostriatum (Str) and neo-cortex (Cx), from asphyxia-exposed and caesarean-delivered control neonatal rats. At DIV18, the cultures were exposed to sub-lethal concentrations of H₂O₂ and glucose deprivation for 18h, as a metabolic insult model, evaluating cell viability and counting cells co-expressing MAP-2 and cleaved caspase-3 with confocal microscopy. The viability test demonstrated a region-specific vulnerability to the second metabolic insult, the SN being the only region showing a further significant increase in cell death, mainly by apoptosis affecting neurons, as revealed by MAP-2 and cleaved caspase-3 co-immunocytochemistry. The present data show a novel neuronal vulnerability as an end-point of PA, implying apoptotic pathways, providing a wide therapeutic opportunity to deal with the long-term effects triggered by PA.

Acknowledgement: Supported by Institute Millennium-BNI (BNI P09-015-F) and FONDECYT (N°1120079, 1110263) grants. RP-L is a CONICYT PhD fellow (21130739).

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

031. LA ADMINISTRACION DE SALSOLINOL, LIBRE DE ISOSALSOLINOL, PRODUCE EFECTOS MOTIVACIONALES SIMILARES A ETANOL (The administration of salsolinol, free of isosalsolinol, elicits motivational effects similar to ethanol).

Quintanilla, M.E.; Rivera-Meza, M.; Berrios-Cárcamo, P.; Bustamante, D.; Buscaglia, M.; Morales, P.; Karahanian, E.; Herrera-Marschitz, M.; Israel, Y.

Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, ICBM. Instituto Milenio BNI-Chile. Universidad de Chile. Santiago, Chile (equintanilla@med.uchile.cl).

El salsolinol se forma en el cerebro por la condensación no enzimática de acetaldehído (metabolito del etanol) con dopamina, obteniéndose dos productos: salsolinol e isosalsolinol. Estudios previos realizados administrando salsolinol a animales sugieren que el salsolinol contribuye al abuso de alcohol. Sin embargo, estos estudios se han realizado con el único salsolinol disponible hasta el año 2010 que contenía 85% de salsolinol y 10-15% de isosalsolinol. Por lo tanto existe la posibilidad de que las propiedades de refuerzo al etanol se deban al isosalsolinol y no al salsolinol. En este trabajo se estudió el efecto de salsolinol, libre de isosalsolinol, en el test de preferencia de lugar, la actividad locomotora y el consumo de alcohol en ratas naive de la línea bebedora UChB. El salsolinol se inyectó intracerebralmente (30 pmol/0.2µl, en el VTA) o intraperitonealmente (10 mg/kg i.p.) durante 3 días alternados para la determinación del test de preferencia de lugar y la actividad locomotora. Los resultados muestran que salsolinol, libre de isosalsolinol, inyectado intra-VTA o i.p. produce: 1) preferencia de lugar condicionado, 2) sensibilización locomotora, 3) aumento del consumo voluntario de etanol que fue prevenido por antagonista opioide (naltrexona 13.2 nmol/0.2 µl, intra VTA). Además, fue posible detectar salsolinol intracerebralmente mediante microdialisis después de la inyección de una dosis intraperitoneal de salsolinol. Se concluye que el isosalsolinol no es necesario para producir los efectos motivacionales que tiene el salsolinol ni para su acción promotora del consumo de alcohol.

Agradecimientos: Financiado por Proyectos FONDECYT N° 113-0012 a M.E.Q, N° 111-30241 a M.R-M y N° 112-0079 a M.H-M. ICM N° P09/015-F

032. ESTUDIO COMPARATIVO SOBRE LOS TRANSPORTADORES DE MONOAMINAS DE DOS ANTAGONISTAS COMPETITIVOS DE LOS RECEPTORES NICOTÍNICOS DE ACETILCOLINA $\alpha 4\beta 2$ (Comparative studies on monoamine transporters of two competitive antagonists of nicotinic acetylcholine receptors $\alpha 4\beta 2$).

Quiroz, G.^{1,2}; Guerra, N.¹; Reyes-Parada, M.³; Sotomayor-Zárate, R.⁴; Iturriaga-Vásquez, P.¹

¹Laboratorio de Química Medicinal y Farmacología Molecular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ²Programa de Doctorado en Farmacología, Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ³Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. ⁴Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile (gquirozn@ciq.uchile.cl).

Erisodina y dihidro-beta-eritroidina (DhβE), alcaloides extraídos de plantas del género *erythrina*, son antagonistas competitivos de los receptores nicotínicos $\alpha 4\beta 2$ los que se unen al sitio de unión de acetilcolina y nicotina con una alta afinidad (K_i 5 y 35 nM respectivamente). Estructuralmente poseen un sistema de cuatro anillos, difiriendo en el anillo D ya que Erisodina tiene un anillo aromático (del tipo catecol) y DhβE tiene un heterociclo (Tetrahidro-piran-2-ona). Ambos tienen un nitrógeno protonable entre los anillos B y C. Erisodina puede interactuar con los transportadores de monoaminas (MATs), ya que tanto las feniletilaminas como los antidepresivos tricíclicos, ambas familias inhibidores de los MATs, poseen un anillo aromático y un nitrógeno protonable, lo cual establece

una estructura farmacofórica de interacción con los MATs (transportador de Serotonina (SERT), transportador de Dopamina (DAT) y transportador de Norepinefrina (NET)). Mientras que DhβE carece de esta propiedad estructural. Para someter a prueba esta hipótesis ensayos de competencia con radioligandos y de inhibición de recaptación de monoaminas en sinaptosomas de cerebro de rata fueron realizados con respecto a los MATs. De esta manera se determinó que Erisodina se une preferentemente a SERT (K_i = 7,76 µM) versus DAT y NET (K_i 483,9 µM y 1986 µM respectivamente) y presenta un bloqueo para SERT y DAT. En el caso de DhβE se observó que se une a NET con una K_i = 1519 µM. Estos resultados nos llevan a proponer un segundo mecanismo de acción de estos antagonistas, especialmente Erisodina como posibles agentes antidepresivos.

Agradecimientos: Proyectos FONDECYT N° 113-0185 (MRP) y FONDECYT de Inicio N° 111-21205 (RSZ), Beca Conicyt Doctorado Nacional (GQ)

Patrocinante: Iturriaga-Vásquez, P.

033. EFECTO ANSIOGÉNICO DE PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS EN RATAS JUVENILES SANAS (Anxiogenic effect of probiotics, prebiotics and symbiotics on healthy juvenile rats).

Realini, O.¹; Escobar-Luna, J.¹; Sotomayor-Zárate, R.^{2,3}; Gotteland, M.⁴; Julio-Pieper, M.¹; Bravo, J.A.¹

¹Grupo de NeuroGastroBioquímica, Laboratorio de Química Biológica, Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. ²Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. ³Núcleo Milenio Estrés y Adicción (NEDA), Pontificia Universidad Católica de Chile. ⁴Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (or.realini@gmail.com)

Se ha demostrado que la intervención de la microbiota intestinal mediante el uso de probióticos y prebióticos afecta la conducta de animales y voluntarios adultos sanos. Sin embargo, este fenómeno no ha sido estudiado en individuos jóvenes. En este trabajo se evaluó en ratas macho Sprague-Dawley juveniles (P35) sanas si una intervención alimentaria con una bacteria potencialmente probiótica (*Lactobacillus casei* L54-2-33, 10⁴ufc/ml), un prebiótico (inulina, 16 mg/ml) y simbiótico (la mezcla de pro y prebiótico), administrados en el agua de bebida por 14 días, afectan las conductas similares a la ansiedad. Estas conductas se evaluaron en la prueba de campo abierto (CA). Adicionalmente se determinaron niveles plasmáticos de corticosterona (CORT) para evaluar si los cambios conductuales dependen de la activación del eje hipotálamo-pituitaria-suprarrenal (HPS). En la prueba de CA los animales alimentados con *L. casei* L54-2-33, inulina y simbiótico permanecieron menos tiempo explorando la zona central con respecto a ratas control, sugiriendo un efecto ansiogénico de los suplementos. No se observaron diferencias en los niveles plasmáticos de CORT entre los distintos grupos experimentales. Los resultados demuestran que intervenciones en la microbiota intestinal con *L. casei* L54-2-33, inulina y simbiótico generan efectos que aumentan las conductas similares a la ansiedad en animales juveniles sanos. Además, estos cambios conductuales son independientes de la activación del eje HPS. En conjunto, estos resultados sugieren que este tipo de intervenciones no necesariamente mejora el bienestar de los animales en etapas tempranas de la vida.

Agradecimientos: PUCV DI 037.386/2014 y Fondecyt 1140776

Patrocinante: Bravo, J.A.

034. LA EXPOSICIÓN NEONATAL A DIHIDROTESTOSTERONA AFECTA A LARGO PLAZO ÁREAS DOPAMINÉRGICAS CEREBRALES INVOLUCRADAS EN MOTIVACIÓN Y LOCOMOCIÓN (The neonatal exposure to dihydrotestosterone affects long term dopaminergic brain areas involved in motivation and locomotion).

Riquelme, R.¹; Espinosa, P.¹; Silva, R.¹; Sanguinetti, N.¹; González, L.F.¹; Cruz, G.²; Renard, G.M.¹; Sotomayor-Zárate, R.^{1,3}

¹Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, ²Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. ³Núcleo Milenio Estrés y Adicción (NEDA), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile (raul_oh@hotmail.com).

El concepto de *programming* fue definido como la redirección fisiológica de un órgano o tejido por un estímulo o insulto precoz en un periodo sensible del desarrollo. En este contexto, el propósito de este trabajo fue determinar los cambios a largo plazo inducidos por la administración neonatal de dihidrotestosterona (DHT: un andrógeno no aromatizable), sobre neuronas dopaminérgicas y la conducta inducida por anfetamina al día posnatal 60 (PND60). En este trabajo se utilizaron ratas Sprague-Dawley de ambos sexos las cuales recibieron al PND1 DHT (1mg/50uL s.c.) y aceite de maíz (50uL s.c.). Al PND60, se realizaron experimentos de microdialisis cerebral *in vivo* para estudiar la liberación de dopamina (DA) en el Núcleo-Accumbens (NAcc) en condiciones basal y estimulada (anfetamina 10 µM, anfetamina sistémica 1 mg/Kg i.p. y K⁺ intra-NAcc 70 mM), a través de HPLC-Detección Electroquímica. Para los experimentos conductuales, se midió la actividad locomotora basal y estimulada por anfetamina, a través del análisis de video grabaciones por el programa ANY-MAZE. Estos resultados muestran que la administración neonatal de DHT, produce una disminución en la liberación de DA inducida por anfetamina sistémica en ratas hembras al PND60. Con respecto a la conducta, la actividad locomotora acumulativa basal aumentó significativamente al PND60 en ratas hembras y machos tratadas con DHT al PND1. Este trabajo demuestra que la exposición a DHT durante las primeras horas de vida, produce cambios a largo plazo que afectan áreas cerebrales involucradas en recompensa y movimiento. Además, estos resultados podrían dar cuenta de una condición de hiperlocomoción similar a la observada en el trastorno de déficit atencional.

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por Proyecto Fondecyt de Inicio en Investigación N° 111-21205 y Núcleo Milenio Estrés y Adicción Proyecto N° P10/063-F.

Patrocinante: Sotomayor-Zárate, R.

035. AUTOADMINISTRACIÓN INTRACRANEAL DE SALSOLINOL VERSUS UNA MEZCLA SALSOLINOL/ISOSALSOLINOL EN EL AREA TEGMENTAL VENTRAL DE RATAS BEBEDORAS P (Intracranial self-administration of salsolinol versus a salsolinol/isosalsolinol mixture into the ventral tegmental area of alcohol-preferring P rats).

Rivera-Meza, M.¹; Deehan, G.A.²; Hauser, S.R.²; Quintanilla, M.E.¹; Herrera-Marschitz, M.^{1,3}; Israel, Y.¹; Rodd, Z.A.².

¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Instituto de Psiquiatría, Escuela de Medicina, Universidad de Indiana, Indianápolis, USA. ³Instituto de Neurociencia Biomédica, Iniciativa Científica Milenio – Chile. (mariorivera@med.uchile.cl).

El etanol es transformado en el cerebro por la catalasa a acetaldehído. El acetaldehído generado puede ser metabolizado a acetato por la ALDH2 o condensar con dopamina para formar los isómeros salsolinol e isosalsolinol. Estudios *in vivo* con una fuente comercial de salsolinol (85% salsolinol, 15% isosalsolinol) han mostrado que ratas se auto-administran intracranalmente esta mezcla en el área tegmental ventral posterior (pVTA). Por lo tanto, se ha sugerido que los efectos reforzantes del etanol estarían mediados por el salsolinol o el isosalsolinol. Sin embargo, no se sabe cuál de los dos isómeros es el responsable de esta acción. El objetivo

de este trabajo fue comparar en ratas de bebedoras P la auto-administración intracranial en el pVTA de salsolinol puro y de una mezcla salsolinol/isosalsolinol. Para ello, ratas P fueron implantadas con una guía-cánula en el pVTA. Utilizando cajas de Skinner equipadas con una palanca activa y otra inactiva, se realizaron 4 sesiones de 4 horas en las cuales la presión de la palanca activa resultó en la administración intracranial de 100 nL del compuesto estudiado (0,1 µM). La presión de la palanca inactiva no generó respuesta. Los resultados mostraron que tanto el salsolinol puro como la mezcla salsolinol/isosalsolinol fueron auto-administrados intracranalmente por los animales. Sin embargo, los animales que recibieron salsolinol puro presentaron un menor número de presiones de la palanca inactiva comparados con los animales que recibieron la mezcla de isómeros. Estos resultados sugieren que el isosalsolinol no estaría involucrado en los efectos reforzantes generados por la mezcla salsolinol/isosalsolinol.

Agradecimientos: Financiamiento FONDECYT #11130241 (MR-M), #1130012 (MEQ), #1120079 (MH-M); BNI P-09-015F (MH-M)

036. EFECTOS AGUDOS DEL ISÓMERO t10-c12 DEL ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO Y DEL PÉPTIDO SsCEI4 SOBRE LA POTENCIACIÓN DE LARGA DURACIÓN EN SINAPSIS GLUTAMATÉRGICAS DE HIPOCAMPO DE RATA (Acute effects of t10-c12 conjugated-linoleic acid and SsCEI4 peptide on long-term potentiation at glutamatergic synapses of the rat hippocampus).

Rojas-Acuña, C.¹; Rojas-Espina, D.¹; Sandoval, R.; Palmieri, G.² y Pancetti, F.¹

¹Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, Chile e ²Instituto de Biociencias y Biorecursos (IBBR), Consejo Nacional para la Investigación, Nápoles, Italia. (cra019@alumnos.ucn.cl).

Resultados preliminares de nuestro laboratorio indican que la enzima acilpéptido hidrolasa (ACPH) es un interesante blanco de acción farmacológico para la potenciación cognitiva. Hemos visto que la inhibición de esta enzima por el compuesto organofosforado diclorvos se relaciona con un aumento de la potenciación de larga duración (LTP) en animales jóvenes. Recientemente hemos establecido una colaboración con investigadores del IBBR en Italia quienes se encuentran trabajando con inhibidores de la ACPH con fines anti-tumorales. Dos de estos inhibidores, el isómero t10-c12 del ácido linoleico conjugado (t10-c12 CLA) y el péptido sintético SsCEI4 (TILAEIKININAD), son altamente eficaces en inhibir a la ACPH y se ha reportado en ensayos *in vitro* que tras 20 min de incubación pueden inhibir en un 43% y en un 100% a la ACPH, respectivamente. Hemos incubado rebanadas de hipocampo de ratas macho de la cepa Sprague-Dawley de entre 1 y 3 meses de edad con t10-c12 CLA 120 uM por 20 min y hemos obtenido un aumento significativo de la LTP de un 32% en comparación con las rebanadas control. En estos momentos estamos realizando experimentos con SsCEI4 50 uM aplicado durante 20 min de incubación, obteniéndose resultados similares a los observados con t10-c12 CLA. Estos resultados indican que estos inhibidores de la ACPH podrían ser considerados como fármacos para la potenciación cognitiva.

Agradecimientos: FONDECYT N° 1140856 a F.P.

Patrocinante: Garrido, G.

037. INHIBICIÓN DE LA POTENCIACIÓN INDUCIDA POR ETANOL DEL RECEPTOR DE GLICINA POR MOLÉCULAS PEQUEÑAS QUE SE UNEN A Gβγ (Inhibition of the Ethanol-induced Potentiation of Glycine Receptor by Small Molecules That Bind to Gβγ).

San Martín, L.S.¹, Cerda, F.E.¹, Jin, C.², Aguayo, L.G.¹, Fuentealba, J., Guzman, L.¹

¹Department of Physiology, University of Concepcion, Concepcion, Chile. ²Center for Organic and Medicinal Chemistry, Research Triangle Institute, Research Triangle Park, North Carolina, USA (loresanmartin@udec.cl).

El receptor de glicina α₁ es crítico para la neurotransmisión inhibitoria en el tronco encefálico y la medula espinal, y posiblemente asociado a la reducción en la coordinación motora y ritmo respiratorio durante una intoxicación aguda por etanol, debido a que su actividad esta potenciada por este alcohol a través del dímero Gβγ. Se ha generado previamente en nuestro laboratorio un péptido (RQHc7) que interfiere con la interacción Gβγ-GlyR y consecuentemente, con la modulación por etanol del GlyR. La región que se propone como sitio de unión a RQHc7 en Gβγ fue utilizado para realizar un *screening virtual* que nos permitió identificar moléculas pequeñas capaces de unirse a este sitio. Usando ensayos electrofisiológicos, se encontró que dos moléculas intracelularmente aplicadas fueron capaces de reducir la potenciación por etanol del GlyRα₁. Usando 100 mM de etanol, M554 (200 μM) inhibió la potenciación por etanol desde un 48 ± 3% a un 30 ± 2%, mientras que M890 (200 μM) disminuyó la potenciación por etanol a un 26 ± 3%. De forma interesante, la potenciación de la constante de tiempo de decaimiento inducido por 100 mM de etanol en neuronas de la médula espinal fue inhibida en presencia de estas moléculas. Estos resultados indican que pequeñas moléculas tienen efectos tanto en las corrientes evocadas como en corrientes sinápticas en un modelo de potenciación por etanol. Estas aproximaciones nos proporcionarán información que puede ayudar en el diseño de moléculas terapéuticas útiles en el tratamiento de la intoxicación aguda por alcohol.

Agradecimientos: Fondecyt 1131004, IDeA FONDEF CA12110280, NIH RO1 AA15150.

Patrocinante: Fuentealba, J.

038. LA ADMINISTRACIÓN NEONATAL DE ESTRADIOL VALERATO AUMENTA LA EXPRESIÓN DEL mRNA DE TIROSINA HIDROXILASA EN NEURONAS DOPAMINÉRGICAS MESOLÍMBICAS Y NIGROESTRIATALES DE LA RATA MACHO ADULTA (Neonatal administration of estradiol valerate increases the expression of tyrosine hydroxylase mRNA in mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic neurons of the adult male rat).

Silva, R.A.¹; Riquelme, R.¹; Espinosa, P.¹; Sanguinetti, N.¹; González, L.F.^{1,2}; Cruz, G.³; Moya, P.R.²; Sotomayor-Zárate, R.^{1,4}

¹Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, ²Laboratorio de Neurociencia Molecular, ³Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. ⁴Núcleo Milenio Estrés y Adicción (NEDA), Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile (roxana_silva28@hotmail.com).

Se ha demostrado que la exposición a hormonas sexuales produce cambios funcionales a largo plazo en tejidos reproductivos y no reproductivos. Por ejemplo, hemos observado que la administración neonatal a Estradiol Valerato (EV) aumenta el contenido de dopamina (DA) en Sustancia Negra (SN)-Área Tegmental Ventral (VTA) de ratas hembras adultas. En machos, también hemos observado que la administración al día postnatal 1 (PND1) de EV o Testosterona-Propionato (TP) aumenta el contenido de DA en SN-VTA.

El objetivo de este trabajo fue estudiar si este aumento del contenido de DA en SN y VTA se relaciona con un aumento en los niveles de expresión del mRNA de Tirosina Hidroxilasa (TH), enzima limitante de la síntesis de catecolaminas. Para esto se utilizaron ratas Sprague-Dawley machos a los

que se les inyectó al PND1 TP (1mg/50ul s.c.), EV (0,1mg/50ul s.c.), Dihidrotestosterona (DHT) (1mg/50ul s.c.) y aceite de maíz (50ul s.c.). Al PND60 se microdisectó SN y VTA determinándose los niveles de expresión de mRNA de TH, Transportador de DA (DAT) y 18s a través de RT-Q-PCR. Los resultados muestran que la exposición neonatal a EV aumenta la expresión del mRNA de TH en SN-VTA de ratas machos adultas. Mientras que la expresión del mRNA de DAT sólo disminuyó en SN. Por otro lado, la administración neonatal a TP aumentó la expresión del mRNA de TH en SN. Nuestros resultados muestran que el efecto de TP sobre la expresión del mRNA de TH podría ser debido a una aromatización a estradiol, ya que la expresión del mRNA de TH y DAT no cambia con la administración neonatal a DHT.

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por Proyecto Fondecyt de Inicio en Investigación N° 111-21205 y Núcleo Milenio Estrés y Adicción Proyecto N° P10/063-F.

Patrocinante: Sotomayor-Zárate, R.

039. ESTUDIO DE VARIACIONES EN EXPRESIÓN Y LOCALIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS FE65, P2X Y APP EN REBANADAS DE HIPOCAMPO DE RATÓN PRETRATADAS CON PEPTIDO β-AMILOIDE (Study of variations in expression and location of proteins FE65, P2X and APP in hippocampal mouse slices pretreated with β-amyloid peptide).

Silva-Grecchi, T.; Parra, A.; Sáez-Orellana, F.; Fuentealba J.

Laboratorio de Screening de Compuestos Neuroactivos, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile (tsilva-grecchi@udec.cl).

La enfermedad de Alzheimer es un desorden neurodegenerativo crónico, que se caracteriza por presentar daño en regiones como el hipocampo y corteza atribuidos a la presencia de agregados extra-neuronales de péptido β amiloide (SO-Aβ), generado a partir de la Proteína Precursora del Amiloide (APP). Se ha descrito que Fe65 se puede unir indistintamente a receptores purinérgicos P2X y a APP; Y que variaciones en los niveles de proteína Fe65 aumentan el procesamiento proteolítico de APP, generando más péptido Aβ. En este trabajo, estudiamos los efectos del pre-tratamiento de rebanadas de hipocampo de ratón con SO-Aβ, en la expresión y localización de la proteína Fe65, y en su interacción con APP y P2X. Se utilizaron rebanadas de cerebro de ratón de 21 días y de 4 meses de edad, que fueron tratadas con SO-Aβ (0,5 μM) en forma aguda (1h) y sub-crónica (5h), para evaluar las variaciones en expresión y localización de Fe65, APP y P2X mediante Western Blot e Inmunofluorescencia. En cuanto a los estudios de colocalización de Fe65 y P2X, se observaron índices de colocalización de 0.6178 y 0.7692 (Coef. de Pearson) y 0.814 y 0.8886 (Coef. de Manders) en GD y CA1 respectivamente, que sugieren que ambas proteínas co-localizan en condiciones basales; mientras que en rebanadas pre-tratadas con péptido Aβ, los resultados mostraron variaciones dependientes del protocolo de tratamiento. Nuestros resultados sugieren que la interacción de P2X y Fe65, puede condicionar la toxicidad de SO-Aβ en neuronas de hipocampo.

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt Regular 1130747, TSG es becaria Fondecyt 1130747.

Patrocinante: Fuentealba, J.

040. LA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA ACIL-PÉPTIDO-HIDROLASA ALTERA LA FUNCIÓN VASCULAR CEREBRAL Y LOS NIVELES DE BETA AMILOIDE (Acyl-paptide hydrolase inhibition alters caerebral-vascular function and amyloid-beta levels).

Valenzuela, J.²; Moraga, J.¹; Moraga, F.³; Pancetti, F.²; Sandoval, R.²

¹Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Chile. ²Laboratorio de Neurotoxicología Ambiental, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.

³Laboratorio de Fisiología y Medicina de Altura, Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile.

La acumulación de beta amiloide (Abeta) 1-42 en cerebro es una característica de la enfermedad de Alzheimer (EA). Una acumulación de Abeta 1-40 en la vasculatura encefálica promueve la angiopatía amiloidea cerebral (AAC). Así, los mecanismos de degradación de Abeta permitirían prevenir la progresión de la enfermedad. Las proteasas de Abeta más estudiadas (p. ej neprilisina) poseen otros sustratos, así que la acetil-péptido-hidrolasa (ACPH), capaz de degradar Abeta 1-40 adquiere relevancia. Es importante determinar si la inhibición de esta enzima altera la cantidad de Abeta en el cerebro y vasculatura. Hipótesis: la inhibición de ACPH produciría un aumento de Abeta 1-40, produciendo alteraciones fisiopatológicas cerebrales y vasculares características de la EA. Se usaron técnicas bioquímicas y electrofisiológicas, usando ratas jóvenes (1 mes), adultas (4-6 meses) y adultas mayores (11 meses) inyectadas con DDVP, un inhibidor de la ACPH. Los datos obtenidos se analizaron y se calculó la significancia estadística. Resultados: la inhibición de ACPH aumenta los niveles de Abeta 1-40 sinápticos y disminuye Abeta 1-42. La actividad de neprilisina aumenta en sinapsis de ratas inyectadas. La inhibición de ACPH disminuye la contractibilidad vascular cerebral dependiente de 5-HT en ratas adultas mayores, pero no en ratas jóvenes o adultas, disminuye la contractibilidad dependiente de FE a todas las edades, aumenta la capacidad vasodilatadora en ratas jóvenes y disminuye la afinidad por ACh en adultas mayores. Conclusión: La inhibición específica de ACPH aumentaría los niveles de Abeta 1-40, produciendo alteraciones vasculares cerebrales que favorecerían las alteraciones fisiopatológicas de la EA y AAC.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Fondecyt Iniciación 11121645.

Patrocinante: Garrido, G.

PRESENTACIONES EN PANELES: FITOFARMACOLOGÍA

041. ESTABILIZACION DE PROANTOCIANIDINAS DE UVA EN NANOPARTÍCULAS DE ÁCIDO POLI-LÁCTICO (Estabilization of grapes proanthocyanidins on polylactic acid nanoparticles).

Aburto, J.¹; von Plessing, C.²; Rockel, M.¹; Fernández, K.¹.

¹Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción, Chile. ²Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile (javiaburto@udec.cl).

Las proantocianidinas (PAs) extraídas desde la piel y semilla de las uvas, tienen un efecto inhibitorio de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), enzima clave en la regulación de la presión sanguínea, lo que les confiere un potencial uso farmacológico. Las PAs son inestables en el tracto digestivo y deben ser estabilizadas para su administración vía oral, lo cual puede ser logrado mediante la nanoencapsulación. El objetivo de este trabajo fue nanoencapsular extractos de semilla de uvas enriquecidos en PAs con un polímero biocompatible y biodegradable (ácido poli-láctico, (PLA)), mediante el método emulsión- evaporación, evaluando la influencia de tres factores: tiempo de sonicación (30[s] a 360[s]) para la formación de la emulsión, carga del extracto (5% a 20%) y concentración del agente estabilizante (PVA: 1% a 3%), mediante un diseño experimental de Box-Behnken. Se requiere encontrar las condiciones óptimas que permitan obtener: mayor eficiencia de encapsulación, menor tamaño y mayor estabilidad. Los resultados mostraron que el tamaño de las partículas estuvo en el rango de 307 [nm] y 634 [nm] y con concentraciones menores a 1% de PVA no hubo formación de nanopartículas. Las condiciones óptimas que permitieron la mayor eficiencia de encapsulación (de un 80%), con un adecuado tamaño de partícula (384 [nm]) y un potencial zeta dentro del rango de estabilidad (-20,8 [Mv]), fueron las siguientes: 360 [s] en el tiempo de sonicación, 12.5% de carga del extracto y un 3% en la concentración de PVA.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento dado por el Proyecto FONDECYT N°1120148.

Patrocinante: Gómez, C.

042. ACTIVIDAD DE EXTRACTOS DE RESIDUOS DE CITRUS AURANTIFOLIA ECOTIPO PICA (LIMÓN DE PICA), OBTENIDOS POR ULTRASONIDO, SOBRE LAS ENZIMAS RELACIONADAS CON EL METABOLISMO DE LOS GLÚCIDOS (Activity of extracts of by-products of *Citrus aurantifolia* ecotype Pica (lime of Pica) on the enzymes involved in the metabolism of carbohydrates).

Campusano, C.; Olivares, G.; Pozo, P.; Garrido, G.

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile (ccacr86@gmail.com).

La diabetes es una enfermedad metabólica crónica que va en progresivo aumento, he aquí la importancia de buscar otras alternativas de tratamiento. El presente estudio consistió en una caracterización química de los metabolitos secundarios de polifenoles presentes en extractos hidroalcohólicos de cáscara de *Citrus aurantifolia* ecotipo Pica, obtenidos por extracción asistida por ultrasonido mediante un diseño experimental Box-Behnken ⁴, la interacción de éstos con alfa amilasa y alfa glucosidasa y su capacidad antioxidante. La identificación de los metabolitos secundarios se realizó mediante CLAE-DAD. La actividad antihiper glucemiante fue determinada por el ensayo de inhibición de alfa-amilasa y alfa-glicosidasa y la capacidad antioxidante a través del ensayo de DPPH. En los extractos hidroetanólicos se cuantificaron hesperidina, flav1 y flav2. Mediante una curva de calibración para hesperidina se cuantificaron los distintos metabolitos (hesperidina: 14,18-8,46 mg/g de extracto seco; flav1: 9,35-7,56 mg/g de extracto seco y flav2: 14,34-10,49 mg/g de extracto seco, siendo estos últimos expresados como equivalentes de hesperidina).

Los extractos hidroetanólicos presentaron efecto inhibitorio sobre la enzima alfa-amilasa (65, 50 y 55% a concentraciones de 0,0125; 0,025 y 0,1 mg/ml, respectivamente), mientras que para alfa-glicosidasa las inhibiciones fueron de 62, 79 y 90% a concentraciones de 0,8; 1,6 y 3,2 mg/ml, respectivamente. Por lo tanto, los extractos hidroetanólicos de cáscara de *Citrus aurantifolia* ecotipo Pica presentaron capacidad antioxidante e inhibitoria de alfa amilasa y alfa glicosidasa, los que podrían ser involucrados en futuros estudios para la utilización de estos residuos como nutracéuticos, para el co-tratamiento de la diabetes tipo 2.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1130601.

Patrocinante: Garrido, G.

043. OBTENCIÓN DE ACEITE A PARTIR DE SEMILLAS DE CITRUS AURANTIFOLIA (CHRISTM.) SWINGLE Y CITRUS SINENSIS (L.) OSBECK COMO FUENTES POTENCIALES DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES (Obtaining oil from *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck seeds as potential sources of antioxidant compounds).

Chou, W.; Goity, L.; Garrido, G.

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Av. Angamos 0610, Antofagasta. (wck001@ucn.cl).

Las semillas de distintos frutos siempre han sido consideradas como productos residuales que carecen de valor comercial. En este trabajo, se demuestra la presencia de ácidos grasos insaturados y compuestos antioxidantes en el aceite de semillas de *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle y *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, limón de Pica y naranja dulce, respectivamente. El aceite fue extraído a través de la extracción convencional con hexano, por Soxhlet y extracción asistida por ultrasonido. Se caracterizó el perfil de ácidos grasos de ambas muestras mediante cromatografía gaseosa acoplada a detector de ionización por llama, determinando la presencia de ácidos grasos insaturados (>50% de rendimiento para ambos métodos de extracción y ambas especies), principalmente los ácidos oleico y linoleico. A su vez, se demostró la presencia de tocoferoles, principalmente en su isoforma α , a través de la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia. Estos compuestos han demostrado tener la capacidad de inhibir el estrés oxidativo celular, gracias a su actividad como antioxidante. Para demostrar esta actividad, los aceites extraídos fueron sometidos a la prueba de decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, teniendo mayor capacidad antioxidante el aceite obtenido de las semillas del limón de Pica en comparación con la naranja dulce. En este trabajo se demuestra que el aceite extraído de las semillas de limón de Pica y naranja dulce exhiben capacidad antioxidante, gracias a la presencia de ácidos grasos insaturados y tocoferoles, otorgando un valor agregado a estos residuos y convirtiéndolos en una fuente potencial de sustancias bioactivas con actividad farmacológica.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT N°1130601.

Patrocinante: Garrido, G.

044. ACTIVIDAD SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA ESPECIE *SENECIO ERIOPHYTON REMY* (Activity on the central nervous system of aqueous extract from *Senecio eriophyton Remy*).

Garrido, G.; Acevedo, J.

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Av. Angamos 0610, Antofagasta (gabino.garrido@gmail.com).

En el presente estudio se realizó la obtención de distintos extractos de la especie *Senecio eriophyton* mediante las técnicas de infusión (extracto acuoso) y maceración en frío (extracto etanólico y diclorometánico). A los extractos se les determinó cualitativamente la presencia de alcaloides y flavonoides mediante cromatografía en capa fina. Se observó que el extracto etanólico y diclorometánico poseían alcaloides (posiblemente pirrolizidínicos), y no así en el extracto acuoso, en el que predominaron los flavonoides. Debido a esto, se seleccionó al extracto acuoso y se realizaron modelos experimentales *in vivo* para comprobar su efecto sobre el sistema nervioso central. El extracto fue administrado por vía oral (de forma aguda). Para determinar la actividad locomotora se utilizó el modelo de campo abierto, para el efecto ansiolítico se utilizaron los modelos de placa perforada y laberinto en cruz elevada y el modelo de nado forzado fue utilizado para la depresión. Los resultados revelaron que a dosis de 500 mg/kg p.c. la infusión causó un aumento significativo en la actividad motora y exploratoria de los animales frente al grupo control, y también aumentó la entrada y tiempo en los brazos abiertos en el laberinto en cruz elevada. En el ensayo de nado forzado, el extracto (1000 mg/kg p.c.) fue tan eficaz como la imipramina (10 mg/kg p.c.) en la reducción de la inmovilidad, aumento en la natación y en los intentos de escapes. Estos resultados sugieren que algunos de los componentes del extracto acuoso de *S. eriophyton*, tales como los flavonoides entre otros, pueden tener propiedades ansiolíticas y antidepressivas sin causar sedación.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N°1130601.

Patrocinante: Garrido, G.

045. EFECTOS CONDUCTUALES DE MELISSA OFFICINALIS Y ROSMARINUS OFFICINALIS EN UN MODELO DE DEPRESIÓN INDUCIDO POR ESTRÉS SUBCRÓNICO (Behavioral effects of *Melissa officinalis* and *Rosmarinus officinalis* in a model of depression induced by subchronic stress).

Garrido-Moreno, V.; Mora, S.; Díaz-Veliz, G.

Departamento de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (valeriasgarrido@hotmail.com)

Melissa officinalis y *Rosmarinus officinalis*, dos plantas que pertenecen a la familia Lamiaceae, han sido usadas ampliamente en la medicina folclórica en muchas patologías, incluyendo trastornos psiquiátricos tan comunes como la depresión. Por otra parte, en animales de experimentación se han observado cambios estructurales a nivel cerebral cuando son sometidos a estrés crónico utilizando un modelo por restricción de movimiento, junto a manifestaciones conductuales similares a la que se producen en pacientes con depresión. En este estudio se evaluaron los efectos tipo antidepressivos de la administración subcrónica durante 10 días de extractos hidroalcohólicos de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* utilizando el test de nado forzado en ratas Sprague Dawley. Los animales sometidos a restricción de movimiento tuvieron un aumento en la inmovilidad comparados con los animales sin restricción de movimiento, lo que evidencia una conducta depresiva, efecto que se vio significativamente disminuido, en forma dosis dependiente, cuando se administraron los extractos de *M. officinalis* y *R. officinalis*, durante los 10 días de restricción de movimiento, favoreciéndose la conducta de natación, no así el escalamiento. Los resultados sugieren un efecto preventivo tipo antidepressivo similar al que se observa con Fluoxetina. Nota: Este trabajo es parte de la Tesis de Magíster en Farmacología de la expositora.

Patrocinante: Díaz-Veliz, G.

046. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE INTERÉS FARMACOLÓGICO PRESENTES EN EXTRACTOS DE PERICARPIO DE *CITRUS X SINENSIS* ECOTIPO PICA. (Chromatographic analysis and antioxidant activity of pharmacological interest secondary metabolites present in extracts from the pericarp of *Citrus x sinensis* ecotype Pica).

Gutiérrez, N.; Goity, L.; Garrido, G.

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Chile (nicole.hidalgo@gmail.com).

Citrus x sinensis (naranja dulce) ecotipo Pica es una especie que crece en el oasis de Pica, sometida a condiciones extremas de temperatura, escasez de agua y a una alta radiación ultravioleta. En la medicina tradicional, se utiliza esta especie para tratar afecciones inflamatorias, cardiovasculares, entre otras, donde todas tienen como componente común el estrés oxidativo. En este trabajo, y dado que el pericarpio es el principal producto de desecho en el proceso de producción de jugos y preparados alimenticios, se seleccionó, secó y pulverizó el material vegetal, para llevar a cabo una extracción con etanol, mediante maceración hasta agotamiento. Los extractos obtenidos fueron analizados por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a un detector con arreglo de fotodiodos. Con la ayuda de un patrón primario para hesperidina se logró la caracterización y cuantificación de ésta, así como la capacidad antioxidante mediante la inhibición de la decoloración del radical DPPH. Este trabajo demuestra la presencia de hesperidina como metabolito mayoritario, así como la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de *Citrus x sinensis* que crecen en Pica, contribuyendo así a la validación del uso y al potencial desarrollo farmacológico de la especie.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1130601

Patrocinante: Garrido, G.

047. INHIBICIÓN DUAL DE UREASA Y ANHIDRASA CARBÓNICA COMO ESTRATEGIA PARA LIMITAR LA CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI POR PARTE DE PROCIANIDINAS NATURALES Y SUS DERIVADOS SEMI-SINTÉTICOS (Dual-inhibition of urease and carbonic anhydrase as strategy to limit *Helicobacter pylori* colonization by natural and semi-synthetic procyanidins derivatives).

Parada, V.¹; García, A.²; Avello, M.¹; Pastene, E.¹

¹Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. ²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción (victorparadaqf@gmail.com).

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) se asocia a enfermedades como la úlcera duodenal y gastritis. Además, el 90% de los casos reportados de cáncer gástrico poseen un historial de infección por *H. pylori*. El tratamiento de la infección con *H. pylori* es una combinación de antibióticos, lo que se asocia con importantes efectos adversos, además de una eficacia variable y selección de resistencia. En el presente estudio se evaluó proantocianidinas (PACs) presentes en ciertas plantas y alimentos (boldo, palta, manzana, etc) con capacidad para prevenir la infección. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de dichos polifenoles naturales sobre la viabilidad de *H. pylori*, actividad ureásica, actividad de anhidrasa carbónica y mecanismos de adhesión a células de adenocarcinoma gástrico (AGS). Además, a partir de las PACs se preparó varios derivados semisintéticos mediante ataque nucleofílico con diferentes agentes (floroglucinol, cisteamina, toluen- α -tiol, etc). Si bien las PACs aisladas del boldo, la palta y la manzana fueron eficaces inhibiendo la ureasa y la adhesión de *H. pylori* en células AGS, sus derivados semisintéticos fueron ineficaces. Interesantemente, dichos derivados fueron capaces de inhibir al anhidrasa carbónica y disminuir significativamente el proceso inflamatorio (IL-8, producción de ROS) determinados por ELISA e imagen molecular. Así, este hallazgo sugiere que la utilización de este nuevo tipo de compuestos dificultaría la capacidad de *H. pylori* de resistir la acidez del estómago, y por lo tanto de infectar la mucosa gástrica. Su combinación serviría como coadyuvante del tratamiento y prevención de la infección.

Agradecimientos: Proyectos: Fondecyt 11110442; Fondecyt 1120290; Innova Bio Bio 12.123-IN-IEM.

Patrocinante: Pastene, E.

048. FENOLES Y FLAVONOIDES DE UTILIDAD FARMACOLÓGICA, OBTENIDOS MEDIANTE ULTRASONIDO, A PARTIR DE RESIDUOS DEL FRUTO DE CITRUS x SINENSIS (L) OSBECK CULTIVADO EN EL OÁSIS DE PICA (Extraction and quantification of phenols and flavonoids by mean of ultrasound, from by-products of *Citrus sinensis* (L) Osbeck fruit cultivated in Pica oasis).

Tapia-Ugarte, C.¹, Tapia-Vera, C.²; Garrido, G.¹

¹Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile. ²Químico Laboratorista, División Chuquicamata, Codelco, Antofagasta (ctapiaugarte@gmail.com).

Debido al interés por la capacidad antioxidante de distintas fuentes vegetales, en este trabajo se determinó la cantidad de polifenoles presente en los extractos de residuos del fruto *Citrus x sinensis* (L) Osbeck ecotipo Pica (naranja de Pica), lo cual está estrechamente relacionado con la actividad que presentan extractos de esta especie, en otras partes del mundo. Mediante la extracción asistida por ultrasonido se obtuvieron extractos a partir de cáscara de *C. sinensis*, mediante un diseño experimental Box-Behnken ⁴. Las variables involucradas fueron: potencia (20,60 y 100 W), dilución (3,3; 5 y 10%, p/v), tiempo (20, 40 y 60 min) y disolvente (disolución hidroalcohólica al 20, 50 y 80%). Como variables independientes se determinaron: rendimiento, contenido de fenoles (Folin-Ciocalteu) y flavonoides (método colorimétrico de cloruro de aluminio) totales. Los extractos hidroetanólicos fueron los que obtuvieron mayor rendimiento (29,2-40,2%), mayor cantidad de fenoles totales (7,9-9,3 g equivalentes de ácido gálico/100 g de extracto seco) y de flavonoides

totales (> 4,5 g equivalentes de quercetina/100g de extracto seco). Estos resultados demuestran la eficiencia en el uso de técnicas de extracción no convencionales con las que se obtienen mayores rendimientos y compuestos con alto potencial farmacológico. Además, reflejan la importancia que pudieran tener los residuos de frutos cítricos, que se producen en el norte del país, y que podrían convertirse en una materia prima útil en la obtención de alimentos funcionales, nutraceuticos o fitofármacos.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1130601

Patrocinante: Garrido, G.

049. IDENTIFICACIÓN DE CINCO CLASES DE TOXINAS DESDE LA GLÁNDULA VENENOSA DE LA SERPIENTE CHILENA PHILODRYAS CHAMISSONIS CON INTERÉS BIOMÉDICO (Identification of five classes of toxins from the venom gland of Chilean snake *Philodryas chamissonis* with biomedical interest).

Urra, F.A.^{1,2,3}, Pulgar, R.³, Labra, A.^{1,4} & Cambiazo, V.³

¹Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Programa de Fisiología y Biofísica y Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Programa de Farmacología Molecular y Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Laboratorio de Bioinformática y Expresión Génica, INTA, Universidad de Chile. ⁴Department of Biosciences, Centre for Ecological and Evolutionary Synthesis, University of Oslo, Norway. (felix.urr@qf.uchile.cl).

La serpiente de cola larga (*Philodryas chamissonis*) es una de las cinco especies presentes en Chile continental. Es la principal responsable de los accidentes ofídicos en nuestro país. Su mordedura produce dolor intenso, sangrado por pocos minutos, inflamación y en algunos casos linfadenopatías. Sin embargo, la identidad molecular de los componentes de las secreciones venenosas son completamente desconocidas. Después de 55 años del único reporte que demostró las actividades anti-coagulantes y proteolíticas de la glándula venenosa de esta serpiente, nosotros identificamos los primeros genes codificantes de toxinas que podrían estar involucrados en estos efectos. Mediante la extracción de RNA de la glándula venenosa y posterior RACE-PCR, fragmentos de cDNA fueron clonados usando el vector pCR2.1-TOPO y células *E.coli*-Top-1 competentes. Desde la secuenciación de los plasmidos recombinantes, fueron obtenidas las secuencias completas de cinco clases de toxinas: Metalloproteasa y Serinproteasas de Veneno de Serpiente (SVMP y SVSP), proteína secretoria rica en cisteínas (Crisp), proteínas similares a lectinas tipo-C (CLP) y péptido natriuretico (NP). Mediante un análisis filogenético, la evolución de estas toxinas fue analizada, demostrando que están relacionadas a proteínas fisiológicas involucradas con la interacción con proteínas de matriz, síntesis de factores de crecimiento, reproducción, hemostasis y control de la presión arterial en mamíferos. Además, la identificación de dominios biológicamente importantes y la predicción de su estructura tridimensional fueron obtenidas. En conclusión, reportamos las primeras cinco clases de toxinas para una serpiente chilena con interés biomédico, ofreciendo una oportunidad para el desarrollo de potenciales fármacos anti-coagulantes, anti-hipertensivos y anti-tumorales.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento de FONDECYT, Proyectos 1120254 (VC), 1120181 (AL), FONDECYT de postdoctorado 3130742 (RP) y Beca Doctorado Nacional (FAU).

Patrocinante: Ferreira, J.

050. EFECTO PROTECTOR DE PROANTOCIANIDINAS SOBRE LA TOXICIDAD INDUCIDA POR P-CRESOL EN CÉLULAS COLÓNICAS HUMANAS (Protective effect of pronanthocyanidin against toxicity induced by p-cresol in human colonic cells).

Wong, X.¹; Carrasco-Pozo, C.¹; Pastene, E.²; Blachier, F.³; Gotteland, M.¹

¹Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile. ²Laboratorio de Farmacognosia, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. ³AgroParisTech, París, Francia. (ximeisa22@hotmail.com)

Las proteínas dietarias no digeridas en el intestino son metabolizadas por la microbiota, generando metabolitos perjudiciales, como el p-cresol, que está asociado al desarrollo de ciertas enfermedades intestinales. Las proantocianidinas (PACs) son oligómeros de flavan3-oles, presentes en frutas, escasamente absorbidas por lo que se acumulan en el colon. Su consumo se asocia a efectos positivos sobre la salud. En este trabajo se determinó el efecto tóxico del p-cresol en células colónicas humanas y el potencial efecto protector de PACs sobre éste. En células HT-29 se determinó la viabilidad celular (MTS), ATP intracelular e integridad de la membrana plasmática (LDH). La función de barrera se analizó en monocapas de células Caco-2, midiendo la resistencia Trans-epitelial (TEER) y el transporte de Dextran-Fitc (FD-4). Luego de 72 h de incubación, 3.2 mM de p-cresol disminuye los niveles de ATP y aumenta la liberación de LDH en un 25 y 43% en células HT-29, respectivamente. Con 48 h de incubación, p-cresol disminuye en un 25% la capacidad de las células para reducir MTS. A una concentración de 1.6 mM, p-cresol disminuye la TEER en un 78% y aumenta 10 veces el transporte de FD-4, respecto al control, luego de 1 y 24 h de incubación con monocapas de Caco-2, respectivamente. Pretratamiento por 48 h con 50 ug/mL de PAC de uva protege completamente la disminución de la TEER inducida por p-cresol. Los resultados muestran que el p-cresol presenta efectos perjudiciales sobre células colónicas, efecto que puede ser contrarrestado por consumo de PACs de uva.

Agradecimientos: Financiado por proyecto ECOS12008 y Fondecyt 112-0290

Patrocinante: Carrasco, C.

051. ACCION DE FRAGARIA CHILOENSIS SPP. CHILOENSIS FRENTE AL DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO POR LPS: NORMALIZACION DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE Y DE LA RESPUESTA ANTI-INFLAMATORIA (Action of *Fragaria chiloensis* spp. *Chiloensis* against liver injury induced by LPS: return to the antioxidant potential and anti-inflammatory response).

Zuniga-Hernández, J.¹; Cespedes, N.¹; Mariqueo, T.¹; Molinett, S.²

¹Departamento de Farmacología Molecular, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Talca, Chile. ²Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca (jezuniga@utalca.cl).

Fragaria chiloensis spp. *Chiloensis* es una planta nativa sudamericana, su fruto (Frutilla blanca) es rico en polifenoles del tipo flavonoide, los cuales poseen importantes características antioxidantes. En el caso de la Frutilla blanca se ha analizado su acción antioxidante sobre el anión superóxido, evidenciándose una capacidad antioxidante mayor respecto a la frutilla comercial (*Fragaria x ananassa*). A la fecha no existen estudios previos que demuestren esta capacidad en modelo animal. El objetivo de este trabajo fue analizar el rol hepatoprotector de la Frutilla blanca sobre el daño hepático inducido por LPS, lo anterior considerando que la inyección de LPS genera pérdida del status oxidativo y una respuesta pro-inflamatoria. Ratas Sprague-Dawley fueron pre-tratadas durante 10 días con zumo de *Fragaria chiloensis* spp. *Chiloensis* (11,76mg/Kg/día; vía oral) o control salino, y sometidas a LPS *i.v* (dosis única 3mg/Kg) o vehículo control, los análisis se realizaron en muestras obtenidas a 3 horas post-inyección. Se observó normalización de los parámetros hepáticos (medición de transaminasas y análisis histológico) y una disminución de los niveles de F2-isoprostanos (ELISA) y de los niveles de expresión de las citoquinas IL-1 β y TNF- α (QT-PCR), esto en relación al grupo control salino. Con esta información podemos concluir que la suplementación dietaria con *Fragaria chiloensis* spp. *Chiloensis* tiene efectos sobre la normalización de la respuesta oxidativa e inflamatoria en un modelo de daño hepático inducido por LPS, información que podría contribuir a las estrategias de hepatoprotección e incrementar el conocimiento sobre las propiedades de la frutilla blanca como alimento funcional.

Agradecimientos: Financiado por Proyectos de Investigación para Investigadores Iniciales I002974, Universidad de Talca.

Patrocinante: Zuniga-Hernandez, J.

PRESENTACIONES EN PANELES: BIOFARMACIA

052. CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE DIFERENTES SUSTITUTOS SALIVALES PARA EL MANEJO DE LA XEROSTOMÍA (Characterization and *In Vitro* Evaluation of Different Saliva Substitutes for Xerostomia Treatment).

Beltrán, F.¹, Forman, K.², Serrano, C.³, Fariña, M.⁴, Morales, J.⁵, Fernández, M.¹

¹Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. ²Departamento de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. ³Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología, Universidad de Concepción. ⁴Hospital Víctor Ríos Ruiz, Los Ángeles. ⁵Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. (felipebeltran@udec.cl).

La xerostomía es un síntoma común en personas mayores que va asociado a diferentes causas como: enfermedades autoinmunes, uso de fármacos, tratamiento de cáncer de cabeza y cuello, etc. El tratamiento de la xerostomía está enfocado en mitigar este síntoma y reestablecer algunas funciones normales de la boca hidratada. El objetivo de este trabajo fue caracterizar y evaluar diferentes sustitutos salivales con el fin de obtener un producto lo más parecido a la saliva natural, para ser utilizado en el manejo de la xerostomía. Las formulaciones desarrolladas fueron evaluadas de acuerdo a sus características organolépticas y reológicas, seleccionando aquellos preparados que fueron transparentes, inodoros, sin sabor residual y con una viscosidad similar a la saliva natural. Las formulaciones seleccionadas fueron evaluadas en cuanto a sus propiedades mucoadhesivas y capacidad desmineralizante del esmalte dental (hidroxiapatita). Se obtuvieron tres formulaciones finales, compuestas por: 1) hidroxietilcelulosa/polivinilpirrolidona/ácido hialurónico/sorbitol, 2) hidroxipropilmetilcelulosa/polivinilpirrolidona/hidroxipropil-β-ciclodextrina y 3) hidroxietilcelulosa/polivinilpirrolidona/sorbitol. Todas las formulaciones estudiadas presentaron flujo pseudoplástico y una viscosidad entre 5 – 22,5 mPa.s (saliva 1,5 – 3,0 mPa.s). El pH de las formulaciones estuvo en el rango 6,7-6,9, que es un rango aceptable para este tipo de formulaciones. El estudio de mucoadhesión indicó que todas las formulaciones seleccionadas generaron una mucoadhesión efectiva frente al control ($p < 0,05$). En cuanto a la evaluación de las propiedades desmineralizantes, ningún preparado demostró tener estas propiedades frente a un control ($p < 0,05$). Se obtuvieron 3 sustitutos salivales con buenas propiedades sensoriales, reológicas y mucoadhesivas, sin provocar desmineralización de la hidroxiapatita.

Agradecimientos: Proyecto VRID-Asociativo 212.074.048-1.0.

Patrocinante: Fernández, M.

053. FUNCIONALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTRANSPORTADORES DE FÁRMACOS ANTICANCERÍGENOS BASADOS EN DENDRÍMEROS PAMAM (Functionalization and characterization of PAMAM dendrimer nanocarriers for anticancer drug treatment).

Díaz, C.F.¹; Alderete, J.B.¹; Guzmán, J.L.²; Jiménez, V.A.³.

¹Laboratorio de Biotáctilis y Diseño Molecular, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, Chile. ²Laboratorio de Neurobiología Molecular, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. ³Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Andrés Bello, Sede Concepción, Talcahuano, Chile. (caroladiaz@udec.cl).

Entre las estrategias empleadas para optimizar la quimioterapia anticancerígena se encuentra el uso de nanotransportadores de fármacos. De ellos, los dendrímeros poliamidoamina (PAMAM) son los más utilizados, no obstante, a raíz de la gran cantidad de aminas primarias en su superficie,

posee elevada citotoxicidad. La funcionalización de la superficie del dendrímero es una alternativa para superar dicha problemática, a través de la reacción de las aminas con cadenas de polietilenglicol. En este trabajo, se funcionalizaron dendrímeros PAMAM de cuarta generación con polietilenglicol-metil-éter de 550 Da al 25% (PAMAM-PEG), sistema que fue caracterizado por resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C. Posteriormente, análisis de viabilidad celular efectuados en células HEK-293, mostraron que a concentraciones de PAMAM-PEG entre 0.002 y 1.0 mM no hay disminución en la sobrevivencia celular, mientras que para iguales concentraciones de PAMAM sin funcionalizar el porcentaje de sobrevivencia desciende hasta un 21.6%. El nuevo sistema nanotransportador se utilizó para encapsular metotrexato, droga altamente usada en la terapia contra el cáncer, pero que presenta una serie de inconvenientes dada su casi nula solubilidad en agua. Los complejos dendrímero-fármaco fueron caracterizados por RMN-NOESY, donde se observa que la droga es capaz de alojarse en las ramas internas de PAMAM-PEG. Esta interacción permite un aumento de la solubilidad del fármaco en agua de más de 8 veces, lo que se midió por espectrofotometría UV-visible. En conclusión, el sistema nanotransportador funcionalizado es capaz de minimizar la toxicidad celular y demuestra ser altamente eficiente en el incremento de la solubilidad de metotrexato.

AgradecimientoS: Financiado por proyecto FONDECYT 1130531.

Patrocinante: Fuentealba, J.

054. DETERMINACIÓN DE LA INTERACCIÓN POLÍMERO - FÁRMACO Y EVALUACIÓN DE CINÉTICA DE LIBERACIÓN *IN VITRO* DE MICROESFERAS DE PLGA CONTENIENDO DICLORHIDRATO DE PRAMIPEXOL (Determination of polymer-drug interaction and evaluation of *in vitro* release kinetics of PLGA microspheres containing pramipexole dihydrochloride).

Fuentes, C.¹; von Plessing, C.¹; Fernández, M.¹

¹Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción (constfuentes@udec.cl).

Pramipexol es un agonista dopaminérgico no ergótico utilizado para el tratamiento de la Enfermedad de Parkinson. El desarrollo de una formulación de liberación sostenida del fármaco lograría disminuir la frecuencia de administración, aportando además una estimulación dopaminérgica continua y contribuyendo a lograr una terapia más eficaz. Las microesferas son sistemas que pueden modular la liberación del fármaco y actuar como reservorio de éste. El objetivo de este trabajo fue caracterizar una formulación de microesferas de diclorhidrato de pramipexol elaboradas con copolímero ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) mediante la técnica emulsión/evaporación de solvente a partir de una emulsión O/W (método A) y de una emulsión W/O/W (método B). La interacción polímero-fármaco fue determinada mediante difracción de rayos X (XRD), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y se realizó un estudio de liberación del fármaco *in vitro*. Mediante XRD y DSC se demostró que el fármaco se encuentra disperso en la matriz polimérica, sin interacciones importantes entre éste y el polímero. Las microesferas obtenidas mediante el método B mostraron una mayor eficiencia de encapsulación con respecto a las del método A, sin embargo, las primeras mostraron una liberación más rápida (32,1±9,7%) que las del método A (7,8±1,0%) durante la primera hora. Estas últimas mostraron una liberación más uniforme y cercana a la linealidad que las del método B. Ambas formulaciones liberaron la totalidad del fármaco a los 30 días. Se concluye que ambas formulaciones presentan características que permiten su administración parenteral y retardan la liberación del fármaco desde su matriz, comportándose como reservorio de éste.

Agradecimientos: Proyecto DIUC N° 211.074.045-1.0, Proyecto Fondecyt Iniciación N° 211.74.045-1.0

Socio Patrocinante: Fernández, M.

055. PIGMENTOS DE BACTERIAS ANTÁRTICAS Y EL EFECTO DE LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN PARA POSIBLES APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS (Antarctic bacteria pigments and the effect of incubation temperature for biotechnological applications).

Hermosilla-Betancur, J.¹; Barrientos, L.¹; Cid, F.²

Laboratorio de Biología Molecular Aplicada. Facultad de Medicina. ²Centro de Interacción Suelo, Planta y Biotecnología de Recursos Naturales. Universidad de La Frontera, Temuco-Chile. (jocelyn.hermosilla85@gmail.com).

Las bacterias psicrófilas, que se encuentran en la Antártica, tienen la capacidad de adaptarse a las condiciones climáticas adversas de este lugar a través de muchas formas, por ejemplo, con pigmentos que le otorgan protección contra los rayos ultra violeta (UV). El objetivo de esta investigación fue comparar la producción de pigmentos bacterianos sometidos a tres temperaturas y así, evaluar la hipótesis planteada de que los pigmentos de las bacterias cambian al modificar la temperatura de incubación de 4°C, 15°C y 30°C. Para ello, se seleccionaron 12 cepas bacterianas aisladas desde la rizósfera de la planta *Deschampsia antarctica*, para posteriormente escoger solo seis, las cuales fueron crecidas en medio de cultivo (NM-1) y sometidas a tres temperaturas de incubación, para el posterior recuento de unidades formadoras de colonias a través de diluciones seriadas. Los resultados obtenidos fue la conservación de los pigmentos de las cepas, las cuales tuvieron un mayor crecimiento a los 15°C. De esta manera se concluye que los pigmentos bacterianos no son afectados por la temperatura de incubación y se constituyen en un biorecurso, que podría ser utilizado en alguna aplicación biotecnológica como por ejemplo, cremas o protectores frente a radiación UV u otros productos.

Agradecimientos: Proyecto INACH RT_14-12

Patrocinante: Farías, J.

056. MICROENCAPSULACIÓN DE POLIFENOLES EXTRAÍDOS DE PINUS RADIATA A TRAVÉS DE SPRAY DRYING (Microencapsulation of polyphenols extracted of *Pinus Radiata* by spray drying).

Olivera, J.¹; Fernández, K.²; Gómez-Gaete, C.³

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción². Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción³. Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción (juanolivera@udec.cl).

Estudios previos en nuestro laboratorio demostraron que polifenoles extraídos de corteza de *Pinus radiata* poseen una comprobada actividad antioxidante en líneas celulares de salmón, pudiendo generar una estimulación del sistema inmune de estos organismos. La aplicación directa del extracto de pino a peces, no es viable debido a su inestabilidad ante factores externos, por lo que la microencapsulación promete ser la solución que superará esta barrera. De este modo, el objetivo de este trabajo fue desarrollar y caracterizar micropartículas para encapsular polifenoles extraídos desde la corteza de *Pinus radiata*. Para ello, las micropartículas fueron elaboradas mediante secado por aspersión utilizando alginato y maltodextrina en distintas proporciones como agentes encapsulantes y una mezcla de etanol:agua (3:7) como disolvente, con una carga inicial de 10% de extracto. Una vez elaboradas, las micropartículas se caracterizaron en su distribución de tamaño, morfología, rendimiento del proceso, eficiencia de encapsulación, humedad residual y densidad. Como resultado se observaron micropartículas esféricas de diámetro medio $2,30 \pm 1,06 \mu\text{m}$, monodispersas y con superficie lisa o rugosa dependiendo del excipiente predominante (alginato y maltodextrina, respectivamente), lo cual fue visualizado mediante microscopía de barrido electrónico. El rendimiento del proceso fue de $71,0 \pm 0,5 \%$. La eficiencia de encapsulación fluctuó entre 74 a 93 %. La humedad residual fue de $8,5 \pm 0,1 \%$ y la densidad de $0,444 \pm 0,002 \text{ g/mL}$.

De este modo se concluye que las micropartículas formuladas poseen características acordes para una futura administración por vía oral.

Agradecimientos: Los autores agradecen al proyecto Innova Corfo 12IDL2-13353

Patrocinante: Gómez-Gaete, C.

057. EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD IN VITRO DE MICROPARTÍCULAS DE RHEIN PARA SU APLICACIÓN TERAPÉUTICA (Evaluation of in vitro cytotoxicity of rhein microparticles for their therapeutic application).

Retamal, M.¹; Chávez, C.²; Bustos, P.¹; Gómez-Gaete, C.²

¹Laboratorio de Inmunología, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

²Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción (macaretamal@udec.cl).

Rhein, metabolito activo de la diacereína, posee actividades antiinflamatorias y condroprotectoras que lo hacen un tratamiento alternativo de la osteoartritis; sin embargo, la administración oral y como fármaco libre presenta importantes limitaciones. En un estudio previo efectuado en nuestro laboratorio se elaboró y caracterizó micropartículas (MP) de rhein por el método emulsión/evaporación de solvente, las que presentaron un perfil de liberación controlada *in vitro*. El objetivo del presente estudio fue evaluar la citotoxicidad en células THP-1 diferenciadas a macrófagos de MP de rhein obtenidas por el método emulsión/evaporación de solvente. Las características de las MP se analizaron por microscopía óptica y electrónica. Los cultivos de células monocíticas THP-1 diferenciadas a macrófagos se expusieron a distintas concentraciones de MP cargadas con rhein y a MP blancas (sin rhein), en presencia o ausencia de lipopolisacárido. Se evaluó la citotoxicidad por el ensayo MTT, determinando la viabilidad celular a las 24 y 48 h de exposición a MP. Las MP de Rhein fueron esféricas, de superficie lisa y con un diámetro medio aproximado de $5 \mu\text{m}$. El estudio de citotoxicidad demostró que las micropartículas, en el rango de concentración de rhein de 0 a $22 \mu\text{M}$, no disminuyen la viabilidad de los macrófagos a las 24 y 48 h de exposición con respecto al control. En conclusión, las micropartículas de rhein elaboradas por el método emulsión/evaporación de solvente presentan características morfológicas y de tamaño adecuadas sin afectar la viabilidad celular. Estos resultados pueden ser considerados para su potencial uso terapéutico en la osteoartritis.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT- 1140706; Convenio de Desempeño vida saludable UCO 1201.

Patrocinante: Gómez-Gaete, C.

058. SELECCIÓN DE LIGANDOS PARA E-SELECTINA MEDIANTE SCREENING VIRTUAL PARA SU UTILIZACIÓN EN SISTEMAS NANOTRANSPORTADORES DE FÁRMACOS (Selection of ligands for E-selectin by virtual screening for drug nanocarrier systems).

Vidal, F.¹; Barra, P.¹; Alderete, J.¹; Jiménez, V.²

¹Laboratorio de Biocatálisis y Diseño Molecular, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, Chile.

²Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Andrés Bello, Sede Concepción, Talcahuano, Chile. (felipevidal@udec.cl).

Los nanotransportadores de fármacos han sido empleados para optimizar distintas propiedades de la quimioterapia anticancerígena, sin embargo, éstos aún no superan cabalmente el problema de la inespecificidad. Para dirigir específicamente los nanotransportadores al tumor se han buscado distintas moléculas de membrana que se expresen característicamente en células tumorales o células asociadas a ellas. Así, amplia evidencia demuestra que E-selectina se sobreexpresa en células endoteliales de la vasculatura tumoral. Por tanto, el objetivo de este trabajo es seleccionar potenciales ligandos para E-selectina a través de una búsqueda masiva mediante técnicas de screening virtual. Utilizando el software *Glide*, se realizó docking entre la librería *drug-like* de la base de datos ZINC y la estructura de E-selectina obtenida desde PDB (1G1T). La cuadrícula generada para efectuar el docking se construyó en base a las interacciones entre E-selectina y su ligando natural SLE^x. Del análisis de los resultados del estudio se obtuvieron 10 ligandos hit para E-selectina, a los que posteriormente se les realizó docking en los programas *X-score* y *Autodock-Vina* para complementar los resultados de *Glide*. Se seleccionaron aquellos ligandos con los mejores puntajes en los tres programas, determinándose así las moléculas código ZINC83240585 (puntuación entre -5,9 y -7,6 kcal/mol) y ZINC84225084 (puntuación entre -5,6 y -7,5 kcal/mol) como potenciales ligandos para E-selectina. Finalmente, estudios de dinámica molecular permitieron establecer que las interacciones preponderantes en la asociación entre E-selectina y los ligandos seleccionados estarían dadas por el grupo carboxilato presente en ellos y los residuos K111 y K113 de la proteína.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT N° 1130531.

Patrocinante: Fuentealba, J. (Universidad de Concepción, Chile)

059. DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE RHEIN ELABORADAS POR SPRAY DRYER (Development and characterization of rhein microparticles prepared by spray dryer).

Vivallos, D.¹; Gómez-Gaete, C.¹; Godoy, R.¹

¹Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción (dvivallos@udec.cl).

La osteoartritis es la forma más prevalente y costosa de las enfermedades musculoesqueléticas. Los mecanismos patogénicos que son la causa del daño tisular de la articulación involucran la inhibición de las enzimas que degradan la matriz y la inhibición de las citoquinas pro-inflamatorias (TNF- α , interleucina-1 β). Rhein (metabolito activo de la Diacerina), se describe como un agente con actividad antiinflamatoria, antiproliferativa y condroprotectora, sin embargo actualmente no cuenta con ninguna presentación farmacéutica en el mercado. El objetivo general de este trabajo fue formular y caracterizar micropartículas biodegradables de Rhein mediante Spray Dryer. Para ello se evaluaron parámetros de proceso y formulación, obteniéndose la proporción óptima de excipientes biodegradables (Fosfolípido, ácido hialurónico). Como resultado se obtuvieron micropartículas esféricas y de superficie lisa, observadas mediante microscopía electrónica (SEM), con un rendimiento de producción del 40%. La distribución de tamaño se evaluó mediante microscopía óptica, presentando un diámetro medio de $8,2 \pm 2,9 \mu\text{m}$. La eficiencia de encapsulación fue de 96,3%, cuantificada mediante HPLC. Finalmente se evaluó la cinética de liberación *in vitro* del fármaco bajo condiciones

fisiológicas, considerando el efecto de la variación del porcentaje de fosfolípido en la formulación, con lo cual se determinó que un aumento de este excipiente en la composición de las micropartículas retarda el burst inicial de liberación del Rhein, lo cual sería útil para una eventual formulación de liberación controlada. En conclusión fue posible obtener y caracterizar micropartículas de Rhein, como potencial herramienta farmacológica de administración local (inyección intraarticular) en pacientes que sufren de osteoartritis.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT-1140706; Convenio de Desempeño vida saludable UCO 1201.

Patrocinante: Gómez-Gaete, C.

060. GENERACIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES HUMANAS PRODUCTORAS DE ERITROPOYETINA PARA SU USO EN TERAPIA CELULAR (Development of erythropoietin-secreting human endothelial progenitor cells for cell therapy).

Valdés, S.¹; Aguayo, C.¹; Toledo, J.R.²; Radojkovic, C.¹

¹Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción. ²Laboratorio de Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción (saravaldes@udec.cl).

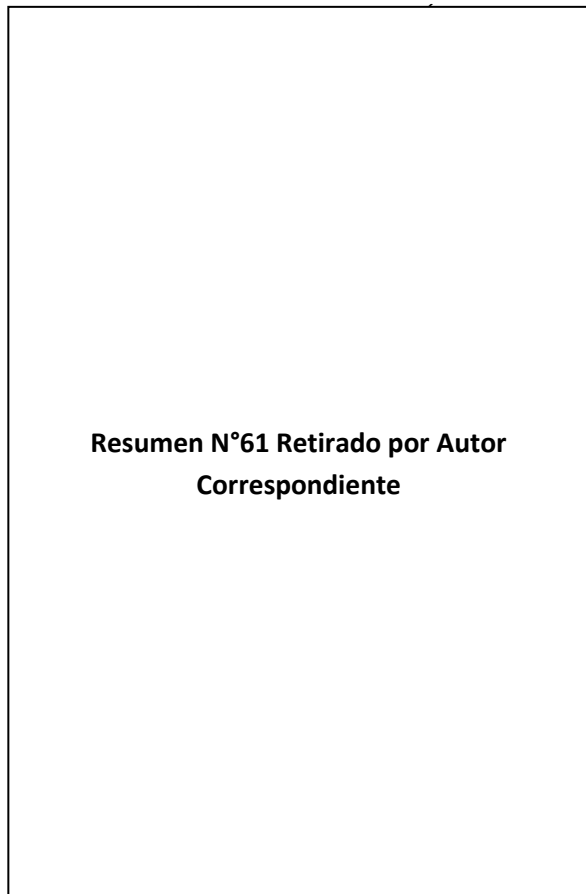
Las células progenitoras endoteliales humanas (hEPC) son células madre que se movilizan desde médula ósea a sangre periférica y se diferencian a células endoteliales, participando en la reparación vascular. La eritropoyetina (Epo), participa en la regulación de la eritropoyesis y ejerce efectos positivos en la angiogénesis; sin embargo, su administración vía intravenosa puede producir efectos secundarios. El objetivo es generar hEPC secretoras de Epo humana, mediante el uso de vectores virales, con el fin de potenciar la reparación vascular en el sitio de injuria. Se obtuvo sangre periférica de voluntarios sanos (20-25 años), previa firma de consentimiento informado. Las hEPC fueron aisladas por centrifugación con gradiente de densidad y cultivadas en placas recubiertas con fibronectina durante 3 y 7 días. Las hEPC fueron transducidas con adenovirus (Ad-Epo) o lentivirus (pLCW-Epo). En hEPC de 3 días, no se observó transducción con ningún vector, determinado por la ausencia de expresión de GFP, mientras a los 7 días se observó células GFP positivas sólo con Ad-Epo, alcanzando alrededor de un 90% de eficiencia (MOI=150 pv) y 100% de viabilidad. En conclusión, las hEPC se lograron transducir luego de 7 días de cultivo con un vector adenoviral, generando células productoras de Epo. Se confirmará la funcionalidad de estas células, evaluando la proliferación, diferenciación hacia el fenotipo endotelial y apoptosis. Además, se determinará el efecto de hEPC-Ad-Epo en angiogénesis, utilizando un modelo *in vivo* de huevos fertilizados.

Agradecimientos: Financiado por Beca CONICYT, Proyectos INNOVA 13.1289-EM.TES y FONDECYT N°1121575.

Patrocinante: Toledo, J.R.

PRESENTACIONES EN PANELES: INMUNOFARMACOLOGÍA Y ONCOLOGÍA

061.



**Resumen N°61 Retirado por Autor
Correspondiente**

062. LA ACTIVACIÓN DE LEUCOCITOS NEUTRÓFILOS HUMANOS CON EL AGONISTA B1 DE CININAS INDUCE LA EXOCITOSIS DE α -DEFENSINAS Y CATELICIDINA (Activation of human neutrophils by a kinin B1 agonist induces the exocytosis of α -defensin and cathelicidin).

Andrade, Y.¹; Matus, C.E.^{1,2}; Pavicic, M.F.¹; Ehrenfeld, P.¹; Figueroa, C.D.¹

¹Laboratorio de Patología Celular, Instituto de Anatomía, Histología y Patología Universidad Austral de Chile, Chile. ²Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Chile. (yessica.andrade.v@gmail.com).

Las α -defensinas y catelicidinas son péptidos antimicrobianos contenidos en gránulos de leucocitos neutrófilos que participan activamente en la destrucción de microorganismos durante procesos infecciosos. El receptor B1 de cininas (RB1), expresado por el neutrófilo humano, regula vías de señalización intracelular asociadas a quimiotaxis, expresión de CD11b/CD18 y liberación de metaloproteasa-9 y mieloperoxidasa. Nos propusimos determinar si la estimulación de RB1 conduce a la exocitosis de α -defensinas y catelicidinas. Se aislaron neutrófilos a partir de sangre periférica de voluntarios clínicamente sanos y se estabilizaron por 30 min a 37°C y 5% CO₂. Luego, fueron estimulados con 100 nM de Lis-des[Arg³]-bradicinina (LDBK) por diferentes tiempos o con 100 nM de f-Met-Leu-Phe (fMLP, control positivo). La liberación de α -defensinas y catelicidinas fue detectada en el sobrenadante por *western blotting* y ELISA.

La estimulación del RB1 provocó una rápida liberación de catelicidina, a partir de los 5 min post-estimulación en concentraciones equivalentes al 20% de lo liberado por el control positivo y a un 5% del total contenido en neutrófilos no-estimulados. El pretratamiento de los neutrófilos con antagonistas de RB1 disminuyó considerablemente los niveles de catelicidina liberada. La presencia de α -defensinas en los mismos sobrenadantes fue cuantificada mediante ELISA en niveles ligeramente superiores a los presentes en medios de incubación de células no estimuladas. Nuestros resultados indican que la activación de RB1 produce la liberación de α -defensinas y catelicidina, lo cual aumenta la respuesta defensiva frente a microorganismos y amplifica la llegada de neutrófilos, monocitos y linfocitos T al sitio inflamatorio.

Agradecimientos: FONDECYT 1110464

Patrocinante: Hidalgo, M.A.

063. EL INTERFERÓN BETA (IFN- β) ACTIVA LA VÍA JAK-STAT Y DISMINUYE LA RESPUESTA FIBRÓTICA EN EL FIBROBLASTO CARDIACO (Interferon beta (IFN- β) activates the JAK-STAT pathway and reduces the fibrotic response in cardiac fibroblast).

Bolívar-González, S., Humeres, D., Landaeta, R., Vivar, R., Muñoz, C., Boza, P., Díaz-Araya, G.

Laboratorio de Farmacología Molecular cardiovascular, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Cs. Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (samirbolivargonzalez@hotmail.com).

El interferón beta (IFN- β) es una citoquina que activa la vía de transducción de señales, Janus quinasa (JAK) y el transductor y activador de transcripción (STAT), y provoca una amplia variedad de respuestas (anti-inflamatorias, pro-inflamatorias, anti-virales y anti-bacterianas). Los Fibroblastos Cardíacos (FC) son las células residentes más abundantes en el corazón, y son reguladores esenciales del recambio de la matriz extracelular. Los FC juegan un papel central en la remodelación cardíaca frente determinadas lesiones; sin embargo, aún son desconocidas las posibles acciones anti-fibróticas del IFN- β en FC. Esta propuesta convierte a esta citoquina y la activación de su vía canónica, en potenciales blancos farmacológicos en el área cardiovascular. Cultivos primarios de FC de ratas adultas en pasaje 2, fueron mantenidos en medio libre de suero por 24 horas y estimulados con IFN- β . Las proteínas STAT, la expresión de α -SMA y colágeno 1 se midieron por western blot, mientras que la migración de los FC se determinó por el método de la herida. El IFN- β activó la vía transduccional JAK/STAT, disminuyó la expresión de colágeno 1 y α -SMA, así como también la migración en FC de ratas adultas. Estos resultados demuestran que el IFN- β tiene acciones antifibróticas en los FC y, por lo tanto, podría prevenir la remodelación cardíaca.

Agradecimientos: Financiado por el Proyecto FONDECYT N° 1130300

Patrocinante: Díaz Araya, G.

064. ANGIOTENSINA II INDUCE LA LIBERACIÓN DE PRO-IL-1B EN FIBROBLASTOS CARDÍACOS (Angiotensin II induces the release of pro-IL-1 β in cardiac fibroblasts).

Boza, P.¹; Vivar, R.¹; Humeres, D.¹; García, L.²; Díaz-Araya, G.¹

¹Laboratorio de Farmacología Molecular Cardiovascular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. ²Laboratorio de Transducción de Señales Moleculares, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (pboza@cig.uchile.cl)

La IL-1 β ha sido reconocida como un blanco terapéutico en las enfermedades infecciosas, autoinmunes e inflamatorias. Sin embargo, en los últimos años se ha descubierto que esta citoquina estaría jugando un importante rol en otro tipo de enfermedades de tipo no infecciosas, entre ellas las enfermedades crónicas no transmisibles, como las enfermedades cardiovasculares. En este trabajo se demuestra un nuevo rol para angiotensina II (AngII), que correspondería a una señal de liberación de pro-IL-1 β en los fibroblastos cardíacos de rata neonata. A través de la activación de TLR4, se demostró que los fibroblastos cardíacos son capaces de sintetizar pro-IL-1 β , pero que ésta no sería capaz de liberarse hacia el medio extracelular (Western-blot). AngII (1 μ M) actuaría como una señal de liberación de esta citoquina inactiva hacia el medio extracelular, hecho no mediado por la activación del inflamasoma NLRP3 (ELISA, Western-blot e inmunocitoquímica). Finalmente, la liberación no clásica de pro-IL-1 β estaría mediada por la cascada transcripcional asociada a calcio del receptor AT1, demostrado a través del uso de los agentes que intervienen esta señalización celular: Losartán (AT1), U73122 (PLC), 2-APB (IP3R) y Bafilomicina (transporte vesicular) (ELISA y Western-blot). Los resultados de este trabajo demuestran una nueva función de AngII como señal de liberación de pro-IL-1 β desde el citosol hacia el medio extracelular, no asociada a la activación del inflamasoma NLRP3, en los fibroblastos cardíacos.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1130300, Beca Doctorado Nacional CONICYT y Beca apoyo Gastos Operacionales 21120407.

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

065. SIMVASTATINA PREVIENE LA ACTIVACIÓN ENDOTELIAL INDUCIDA POR *Trypanosoma cruzi* MEDIANTE LA GENERACIÓN DE 15-EPI-LIPOXINA-A4 (Simvastatin prevents endothelial activation induced by *Trypanosoma cruzi* throughout 15-epi-lipoxin-A4 generation).

Campos-Estrada, C.¹, López-Muñoz, R.¹, Medina, J.¹, Kemmerling, U.², Maya, J.D.¹

¹Programa de Farmacología Clínica y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile. ²Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile (ccampos@cig.uchile.cl)

En la enfermedad de Chagas, el *Trypanosoma cruzi* desencadena una respuesta inflamatoria que tiende a limitar la infección. Sin embargo, la permanencia del parásito provoca la persistencia de la inflamación que finalmente conduce al desarrollo de la Cardiopatía Chagásica Crónica (CCC). La CCC es consecuencia de alteraciones microvasculares, entre otros mecanismos. Característicamente, la expresión de moléculas de adhesión celular (ECAMs) como ICAM-1, VCAM, y E-selectina, está aumentada para favorecer el reclutamiento de células inflamatorias. Es posible mejorar el tratamiento antichagásico actual modificando algunos aspectos de la fisiopatología en el hospedero. Así, se propone que simvastatina, por sus efectos pleiotrópicos que modulan la respuesta inflamatoria vascular, podría mejorar la disfunción endotelial inducida por *T. cruzi*, en un mecanismo que involucra la producción de 15-epi-lipoxina A4. En células endoteliales (EA.hy926) previamente tratadas con simvastatina durante 24 horas, y posteriormente infectadas con *T. cruzi*, se observó disminución de la activación y consecuente expresión de ECAMs y en consecuencia, disminución de la adhesión de leucocitos. Simultáneamente, simvastatina bloqueó la activación de NF- κ B e indujo la producción de 15-epi-lipoxina A4.

Es más, la 15-epi-lipoxina A4 fue capaz de disminuir, por sí misma, la expresión de ECAMs. Se concluye que simvastatina previene la activación endotelial, a través de un mecanismo dependiente de la producción de este lípido pro-resolutorio de la inflamación, 15-epi-lipoxina A4. Es posible entonces modular farmacológicamente aspectos centrales de la fisiopatología de la CCC, promoviendo, eventualmente, una mejor respuesta antiparasitaria.

Agradecimientos: Fondecyt Grant 1130189, 11110182, 1120230 y Beca de Doctorado Nacional CONICYT 21110659.

Patrocinante: Maya, J.D.

066. OXIDACIÓN INTRACELULAR DEL DIACETATO DE 2',7'-DICHLORODIHIROFLUORESCINA NO MEDIADA POR ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO: POSIBLE ROL DE LA ACTIVIDAD PEROXIDASA (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate intracellular oxidation not mediated by reactive oxygen species: Possible role of peroxidase activity).

Carmona, E.M.; Pino, J.A.; Reyes, J.G.

Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. (emersoncr207@gmail.com).

La producción de especies reactivas de oxígeno intracelular (iEROs) es un parámetro fisiológico importante para medir respuestas celulares a estrés o fármacos. Una metodología ampliamente utilizada para medir iEROs es la utilización del diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (H₂DCF-DA), el cual queda secuestrado dentro de la célula, donde puede ser oxidado en su forma fluorescente por algunas iEROs. En este trabajo nos preguntamos por las fuentes celulares de oxidación de H₂DCF-DA. Utilizando como modelo células espermatogénicas, encontramos una cinética de oxidación basal de H₂DCF-DA que disminuye por tratamiento con rotenona, inhibidor del complejo I mitocondrial, pero no en forma proporcional a la disminución en el consumo de oxígeno. Tratamientos con H₂O₂, que por sí solo no oxida H₂DCF-DA, produce una cinética de oxidación saturable en células. Adicionalmente, utilizando fraccionamiento celular y colocalización del producto y MitotrackerRed hemos evidenciado que la oxidación de H₂DCF-DA se distribuye en los distintos compartimentos celulares. Para dilucidar una posible fuente de oxidación, se realizaron ensayos con peroxidasa de rábano (HRP) y glutatión peroxidasa. Ambas enzimas fueron capaces de oxidar la sonda en presencia de H₂O₂. HRP produjo también oxidación de H₂DCF-DA en ausencia tanto de oxígeno como de H₂O₂. Los resultados obtenidos indican que H₂DCF-DA es oxidado por H₂O₂ en presencia de peroxidasa y por peroxidasa celulares en ausencia de H₂O₂, lo que parece no involucrar la producción de iEROs. Por lo tanto, al utilizar H₂DCFDA para medir iEROs, es importante considerar estas propiedades analíticas para interpretar correctamente los resultados.

Agradecimiento: Financiado por FONDECYT N° 1140758 a J.R. y PUCV-VRIEA a J.P.

Patrocinante: Julio-Pieper, M.

067. EFECTOS CARDIOPROTECTORES INDUCIDOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE OMEGA 3 EN RATAS SOMETIDAS A HIPOXIA INTERMITENTE (Cardioprotective effects induced by omega 3 administration and intermittent hypoxia in rats).

Castillo, R.¹; González-Candia, A.¹; Farías, J.G.²; Herrera, E.A.¹

¹Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. ²Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile (rcastillo@med.uchile.cl)

La hipoxia hipobárica intermitente (HHI) induce cambios a nivel morfológico y funcional en el corazón, probablemente asociados a la ocurrencia de estrés oxidativo e inflamación. La suplementación con omega 3 tiene efectos protectores contra el daño por especies reactivas de oxígeno. El objetivo fue determinar el efecto protector de la suplementación con omega 3 sobre el tamaño de infarto, estrés oxidativo e inflamación en ratas sometidas a HHI. Ratas Wistar adultas fueron tratadas por 8 semanas: normoxia normobárica (Nx, n=7), Nx suplementadas con omega 3 (0.3g/kg/día, DHA:EPA=3:1) (Nx+Ω3, n=7), hipoxia hipobárica intermitente (Hx, n=7) y Hx+Ω3 (n=7). La HHI fue inducida por 4 períodos, intercalados con normoxia por 96h. Al finalizar las exposiciones, las ratas fueron eutanizadas y sus corazones sometidos a isquemia global por 30 min y reperfusión durante 120 min. Se determinó tamaño de infarto, lipoperoxidación (TBARS), glutatión reducido (GSH)/oxidado (GSSG), nitrotirosina (NT), NF-KB e IL-1β en tejido cardíaco al final de la reperfusión. El tamaño de infarto miocárdico fue 25.8% (Nx+Ω3), 38.8% (Hx) y 52.1% (Hx+Ω3) menor, comparado con Nx (P<0.05). A la vez, TBARS, NT, las subunidades p50 y p65 de NF-KB, e IL-1β fueron menores en los corazones de ratas hipoxicas y en los suplementados con omega 3 en forma independiente. Los niveles de GSH/GSSG fueron mayores en los grupos Nx e Hx, posterior a la suplementación con omega 3.

La HHI induciría un precondicionamiento cardíaco, reforzado por la suplementación con omega 3, a través de un efecto antioxidante y antiinflamatorio en ratas expuestas a esta condición ambiental.

Agradecimientos: FONDECYT 1110595 (EAH); FAPESP 2012/50210-9, FONDECYT 1080482

068. ANTAGONISMO DE LA ACTIVIDAD ANTICHAGÁSICA DE NIFURTIMOX Y BENZNIDAZOL MEDIANTE EL USO DE PENTAMIDINA EN PARÁSITOS AISLADOS Y EN UN MODELO *IN VITRO* DE INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* (Antagonism of the antichagasic activity of nifurtimox and benznidazole using pentamidine in isolated parasites and in an *in vitro* model of *Trypanosoma cruzi* infection).

Castro, L.; Cortés, L.; Seguel, V.; Maya, J.D.; López-Muñoz, R.

Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (lorena.castro.maripangue@gmail.com).

La enfermedad de Chagas, producida por el parásito *Trypanosoma cruzi*, afecta aproximadamente a 10 millones de personas en el mundo y es endémica en Latinoamérica. El tratamiento actual consiste en el uso de los fármacos nifurtimox (NFX) y benznidazol (BNZ), que provocan múltiples reacciones adversas, sin garantizar una efectividad total. Se propone el uso de pentamidina (PTM), antiprotozoario que bloquea el transporte de putrescina, poliamina fundamental para la síntesis de tripanotión, como nuevo agente terapéutico. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la combinación de pentamidina con nifurtimox y benznidazol contra *T. cruzi*. Se utilizaron tripomastigotes cepa Y aislados para determinar la viabilidad parasitaria mediante reducción de sales de tetrazolio (MTT), la cual disminuyó de acuerdo a la concentración del fármaco con valores de IC₅₀ 4,1 ± 0,9 μM para NFX, 17,2 ± 2,4 μM para BNZ y 3,9 ± 0,7 μM para PTM. Los valores de IC₅₀ de NFX y BNZ en presencia de PTM fueron de 4,8 ± 0,9 y 17,2 ± 1,8 μM, respectivamente. Los índices de combinación obtenidos fueron indicativos de antagonismo entre los fármacos estudiados (valores superiores a 1), lo cual se correlaciona con la ausencia de sinergismo

obtenida al evaluar la carga parasitaria en un modelo *in vitro* de infección mediante qPCR y tinción de núcleos (sondas fluorescentes).

En conclusión, y contrario a la hipótesis planteada, pentamidina antagoniza el efecto de nifurtimox y benznidazol, tanto en modelos de parásitos aislados como en modelos de infección *in vitro*.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 11110182.

Patrocinante: López-Muñoz, R.

069. EFECTO TRIPANOCIDA DE LOS CATIONES LIPOFÍLICOS DESLOCALIZADOS DERIVADOS DEL ÁCIDO GÁLICO (Tripanocidal effect of delocalized lipophilic cations gallic acid derivatives).

Cortés, L.¹, Castro, L.¹, Pesce, B.¹, Jara, J.A.², Castro, V.³, Ferreira, J.¹, Seguel, V.¹, Maya, J.D.¹ y López-Muñoz, R.¹.

¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Departamento de Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación (locortes@uc.cl).

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, afecta a 10 millones de personas en el mundo. La terapia actual no es efectiva en cuadros crónicos y genera elevados efectos adversos. El ácido gálico es un compuesto polihidroxifenólico presente en plantas, con actividad antibacteriana, antiviral y antitumoral. Los cationes deslocalizados trifenilfosfonios (TPP), derivados del ácido gálico presentan actividad antitumoral, mediada por su capacidad de acumularse en la mitocondria. A diferencia de las células de mamífero *T. cruzi* posee solo una mitocondria para la síntesis de ATP, que además tiene diferencias bioquímicas con la mitocondria de mamífero que permitirían la acumulación selectiva de los cationes TPP. Basándose en la estrategia de inhibición mitocondrial el objetivo fue evaluar el efecto antichagásico de cuatro compuestos derivados de ácido gálico unidos a una porción trifenilfosfonio mediante una cadena alquílica de largo 8, 10, 11 y 12 carbonos (TPP⁺C8, TPP⁺C10, TPP⁺C11 y TPP⁺C12, respectivamente). En parásitos aislados, se determinó la DL₅₀ para los compuestos mediante la técnica MTT y se evaluó la muerte mediante citometría de flujo. En ambas determinaciones, TPP⁺C10 y TPP⁺C12 fueron los compuestos más activos. En células infectadas con *T. cruzi*, se observó que TPP⁺C10 y TPP⁺C12 disminuyeron de forma significativa la carga parasitaria, determinado por qPCR y microfotografías de fluorescencia con tinción DAPI. TPP⁺C10 y TPP⁺C12 provocaron la caída del potencial de membrana mitocondrial de *T. cruzi* mediante la sonda fluorescente JC-1. Estos resultados indican que los compuestos TPP⁺C10 y TPP⁺C12 son potentes antichagásicos *in vitro*, con actividad mitocondrial.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 11110182.

Patrocinante: López-Muñoz, R.

070. EL PRE-CONDICIONAMIENTO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES CON RAPAMICINA Y METFORMINA, AUMENTA SUS CAPACIDADES INMUNOSUPRESORAS *IN VITRO* (Rapamycin and Metformin pre-conditioning, enhance immunosuppressive effect of Mesenchymal Stem Cells *in vitro*).

Díaz, C.E.; Fernández, C.O.; Ruiz, D.H; Vega, A.L.; Kurte, M.G.; Gauthier, M.A.; Moya, I.; Carrión, F.

Laboratorio de Inmunología Celular y Molecular, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de los Andes (christian.diaz@alumnos.uv.cl).

Las Células Madre Mesenquimales son células multipotenciales, no hematopoyéticas con capacidad de dar lugar a tejido de distintas capas germinativas y de auto-renovación, además de poseer un efecto inmunomodulador que ha permitido su uso como agente terapéutico en diversas patologías autoinmunes. Los efectos inmunosupresores de las células madre Mesenquimales están fuertemente moduladas por factores del microambiente y puede responder a citoquinas inflamatorias y drogas inmunosupresoras, este efecto modulador de las capacidades inmunosupresoras es conocido como licenciamiento o pre-condicionamiento. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del pre-condicionamiento de células madre Mesenquimales de manera de potenciar las capacidades inmunosupresoras *in vitro*. Rapamicina y Metformina son dos inhibidores de la vía de señalización de mTOR, vía crucial en el crecimiento celular, proliferación y cambios relacionados con el envejecimiento de células madre Mesenquimales. Los resultados de este trabajo demuestran que el pre-condicionamiento de Rapamicina y Metformina aumenta la capacidad inmunosupresora de las células madre Mesenquimales, medida por su capacidad de inhibir la proliferación de esplenocitos activados por mitógeno policlonal. Consecuentemente con los resultados, las propiedades inmunosupresoras de las células madre Mesenquimales pueden ser moduladas por compuestos bioactivos aprobados para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y enfermedades metabólicas, lo que podría constituir una nueva estrategia terapéutica para diversas patologías autoinmunes.

Agradecimientos: Financiado por proyecto FONDECYT 1130444 a C.F.

Patrocinante: Weinstein-Oppenheimer, C.

071. PARTICIPACIÓN DE TLR4 EN LA LIBERACIÓN DE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS Y PROFIBRÓTICAS EN FIBROBLASTOS Y MIOFIBROBLASTOS CARDIACOS (Role of TLR4 in proinflammatory and profibrotic cytokine release in cardiac fibroblasts and myofibroblasts).

Humeres, C.¹; Ayala, P.¹; Vivar, R.¹; Ariel, D.²; García, L.²; Díaz-Araya, G.¹

¹Laboratorio Farmacología Cardiovascular Molecular, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. ²Laboratorio Transducción de señales moleculares, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (dhumeres@ciq.uchile.cl).

La fibrosis cardiaca es una enfermedad con un fuerte componente inflamatorio en el cual participan tanto células del sistema inmune como del sistema cardiovascular. Existe abundante literatura que responsabiliza al receptor TLR4 como un elemento vital para el inicio y resolución de las respuestas inflamatorias a nivel cardiaco. La activación de TLR4 induce un aumento en la producción de citoquinas por parte de las células inmunes, sin embargo se desconoce cuál es la contribución de dicho receptor en la secreción de citoquinas por parte de otras células estructurales residentes del corazón, como son fibroblastos y miofibroblastos cardiacos. Fibroblastos y miofibroblastos cardiacos obtenidos de ratas Sprague-Dawley adultas fueron estimulados con LPS (1 µg/ml, 24, 48 horas) en presencia/ausencia del inhibidor específico de la señalización de TLR4 (TAK242: 1 µM), y se midió un perfil de citoquinas proinflamatorias y profibroticas (TNF-α, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IFN-γ) liberadas al medio de cultivo.

La secreción de las citoquinas mencionadas fue determinada mediante el kit de MILLIPLIX[®] (Milliplex MAP Rat Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel, Millipore, USA). Nuestros resultados muestran que la activación de TLR4 a las 24 y 48 horas induce un aumento en la secreción de IL-10 y MCP-1, por parte de fibroblastos y miofibroblastos cardiacos, siendo mayores estos niveles en este último tipo celular. Interesantemente la activación del receptor TLR4 en el fibroblasto cardiaco generó un aumento en la liberación de TNF-α, sin embargo en el miofibroblasto cardiaco dicho aumento no se observó.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1130300, Beca Doctorado Nacional Conicyt, Beca gastos operacionales N° 21120406.

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

072. PERFIL DE EXPRESION DE GENES ASOCIADOS AL METABOLISMO INTRACELULAR DE COLESTEROL EN CELULAS THP-1 TRATADAS CON ESTATINAS (Expression profile of genes related to intracellular cholesterol metabolism in THP-1 cells treated with statins).

Lagos, J.¹; Hirata, R.D.C.²; Hirata, M.H.²; Salazar, L.A.¹

¹Centro de Biología Molecular & Farmacogenética, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile; ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil (luis.salazar@ufrontera.cl).

Introducción: Las estatinas son fármacos hipolipemiantes que actúan inhibiendo la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A reductasa (HMGR). La farmacodinamia de las estatinas está asociada a la biosíntesis intracelular de lípidos en donde se activa el factor de transcripción SREBF2 para incrementar receptores para LDL (LDLR) y así disminuir el colesterol plasmático. En esta vía participan también proteínas tales como: SCAP (proteína activadora del clivaje para SREBP), INSIG (gen inducido por insulina), proteasas de clivaje S1P y S2P (MBTPS1 y MBTPS2) y proteína de importe nuclear Importina-Beta (KPNB1). Objetivo: Evaluar el efecto de estatinas sobre la expresión de genes relacionados al metabolismo intracelular de colesterol en un modelo celular de aterosclerosis. Metodología: Se cultivaron células THP-1 en medio RPMI en ausencia y presencia de 10 µM de atorvastatina y simvastatina durante 24 horas. Se evaluó la expresión génica de HMGR, LDLR, SCAP, INSIG1, INSIG2, SREBF1, SREBF2, MBTPS1, MBTPS2 y KPNB1 mediante cuantificación relativa por PCR en tiempo real. Resultados: Se demostró que ambas estatinas inducen sobreexpresión de los genes LDLR, HMGR, SREBF2 e INSIG1. Además, simvastatina indujo sobreexpresión de SCAP, MBTPS1 y MBTPS2. Por otro lado, ninguna de las terapias modificó la expresión génica de SREBF1, INSIG2 y KPNB1. Conclusiones: Las estatinas investigadas modulan de forma diferencial la expresión de los genes involucrados en el metabolismo intracelular de colesterol. Cabe destacar que esta investigación constituye el primer antecedente sobre el estudio de expresión de los genes MBTPS1, MBTPS2 y KPNB1.

Agradecimientos: Beca CONICYT Doctorado & Proyecto FONDECYT 1130675.

Patrocinante: Salazar Navarrete, L.

073. EN FIBROBLASTOS CARDIACOS HEPARAN SULFATO ACTIVA TLR4 Y A TRAVÉS DE LAS VÍAS PI3K/Akt Y NF-KB DISMINUYE EL NIVEL DE α -SMA (In cardiac fibroblast Heparan Sulfate activates TLR4 and through PI3K/Akt and NF-kB signaling pathways decrease α -SMA levels).

Landaeta, R.¹; Santana, R.¹; Humeres, C.¹; Vivar, R.¹; García, L.²; Díaz-Araya, G.¹

¹Laboratorios de Farmacología Molecular Cardiovascular, y ²Laboratorio de Transducción de Señales Moleculares de la Célula, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. (rolamil@gmail.com).

En nuestro laboratorio hemos demostrado que LPS (un ligando exógeno proveniente de bacterias), activa el receptor TLR4, e induce una disminución en los niveles de la proteína α -SMA en fibroblastos cardíacos (FC) de ratas adultas. La proteína α -SMA es utilizada como un marcador del cambio de fenotipo celular en la diferenciación de fibroblasto a miofibroblasto cardíaco, siendo estas últimas células responsables del proceso de reparación de tisular y del desarrollo de la fibrosis cardíaca. En este trabajo, hemos utilizado heparan sulfato (HS), un ligando endógeno capaz de activar el TLR4, y que en el tejido cardíaco se produce como consecuencia de la degradación de la matriz extracelular por un daño tisular. Los FC de ratas adultas en cultivo, se estimularon con HS (1 μ g/mL por 72 hrs), y los resultados mostraron que HS, al igual que LPS, fue capaz de disminuir tanto los niveles de expresión de α -SMA así como también la formación de las fibras de estrés. La disminución de α -SMA fue mediada por la activación del receptor TLR4, puesto que TAK-242 (1 μ M: un inhibidor específico del TLR4) revirtió la disminución de α -SMA, inducida por HS. Por otro lado, utilizando inhibidores específicos de las vías ERK1/2 (PD98059, 10 μ M), PI3K/Akt (Ly294002, 1 μ M) y NF-Kb (Bay 11-7082, 0,5 μ M) demostramos que HS a través de TLR4 activó las vías PI3K/Akt y NF-kB para disminuir los niveles de expresión de α -SMA. Conclusión: HS revierte y previene la diferenciación de fibroblasto a miofibroblasto cardíaco.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1130300.

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

074. SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE NUEVOS DERIVADOS DE [1,2,3] TRIAZOLO [1,5A] PIRIDINAS COMO AGENTES ANTICHAGÁSICOS: EFECTO SOBRE LA PROLIFERACIÓN CELULAR EN EPIMASTIGOTES DM28C (synthesis and biological evaluation of new derivatives [1,2,3] triazolo [1,5- α] pyridines as antichagasic agents: effect on cell proliferation in epimastigotes dm28c).

Lapier, M.^{1,2}; Abarca, B.³; Ballesteros, R.³; Ballesteros-Garrido, R.³; Olea-Azar, C.¹; López-Muñoz, R.²; Maya, J.D.²

¹Free Radical and Antioxidants Laboratory, Inorganic and Analytical Department, Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile, Sergio Livingstone Polhammer 1007, Santiago, Chile. ²Clinical and Molecular Pharmacology Program, Institute of Biomedical Sciences (ICBM), Faculty of Medicine, University of Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. ³Department organic Chemistry, Faculty of pharmacy, University of Valencia, España (michel.lapier@gmail.com).

La *tripanosomiasis americana* o enfermedad de Chagas, es una de las enfermedades parasitarias potencialmente mortal que afecta a gran parte de Latino América. En la búsqueda de nuevos tratamientos en contra de la enfermedad, se han descrito que compuestos azólicos son capaces de afectar la viabilidad de *Trypanosoma cruzi*, siendo la principal vía de acción la inhibición de la enzima TcCYP51. En nuestro grupo se ha sintetizado una nueva serie de compuestos azólicos conocidos como derivados de [1,2,3] triazolo [1,5 α] piridinas, estos serían potenciales inhibidores de la enzima TcCYP51. En este trabajo se presenta la síntesis de esta nueva serie y el efecto sobre la proliferación en epimastigotes Dm28c. La síntesis se realizó mediante la reacción de litación de los derivados triazolo piridinas con diferentes electrófilos tales como picolinato, nicotinato e isonicotinato de etilo.

Los productos de la síntesis fueron caracterizados mediante RMN y espectroscopia IR. Por otra parte, para evaluar la viabilidad del parásito se utilizó la técnica de MTT, los cultivos fueron incubados por tres días y diariamente se evaluó el crecimiento. Nuestros resultados indican que la proliferación del parásito se ve afectada de manera similar al efecto provocado por drogas antifúngicas como fluconazol, inhibidor de la enzima CYP51. En conclusión los valores obtenidos nos indican que existe un efecto antiproliferativo en el parásito que probablemente se debiese a la inhibición de enzimas que participan en la síntesis de ergosterol.

Agradecimientos. CONICYT Beca doctoral 21130455, FONDECYT 1110029 (C Olea-Azar).

Patrocinante: Lopez Muñoz, R.

075. EFECTO DE ZONIPORIDA SOBRE LA SECRECIÓN MMP-9 Y LACTOFERRINA EN NEUTRÓFILOS DE BOVINO ESTIMULADOS CON PAF (Zoniporide effect on MMP-9 secretion and lactoferrin in bovine neutrophils stimulated with PAF).

Larrazabal, C.; Carretta, M.D.; Conejeros, I.; Burgos, R.A.

Instituto de Farmacología y Morfofisiología. Laboratorio de Farmacología de la Inflamación. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile (camilo.larrazabal.r@gmail.com).

El polimorfo nuclear neutrófilo o PMN corresponde a una población leucocitaria, fundamental para la inmunidad en mamíferos. Su función antimicrobiana, es efectiva, pero es capaz de provocar un daño en los tejidos circundantes, no existiendo en la actualidad fármacos capaces de inhibir la función del PMN sin comprometer otros elementos de la inmunidad innata. Por otro, lado se ha descrito que el control del pH celular es fundamental para la función microbicida ejercida por PMNs, el cual es regulado por transportadores como la isoforma 1 del intercambiador de Na^+/H^+ (NHE 1). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de zoniporida, un inhibidor selectivo de NHE 1, sobre la secreción de MMP-9 y lactoferrina en PMNs estimulados con PAF mediante zimografía y ELISA. Adicionalmente evaluamos la presencia del ARNm de este transportador en PMNs mediante RT-PCR y la capacidad de zoniporida para interferir con cambios de pH intracelular, el influjo de calcio y la remodelación de actina mediante fluorimetría y citometría de flujo respectivamente. Los resultados indican que en PMN de bovino existe el ARNm de NHE 1, pero no de NHE 2. El uso de zoniporida en concentraciones de 10 y 1000 nM interfirió con la alcalinización intracelular inducida por PAF, sin afectar la entrada de calcio ni la remodelación de F-actina. Por otro lado, zoniporida ≥ 10 nM interfirió la secreción de lactoferrina, pero no la de MMP-9, sugiriendo que la actividad transportadora de NHE 1 es necesaria para la secreción de gránulos que contienen lactoferrina inducida por PAF.

Agradecimientos: Financiado por proyecto FONDECYT 1120718

Patrocinante: Burgos, R.A.

076. LPS MODULA LA EXPRESIÓN DE COX-1, COX-2 E iNOS EN FIBROBLASTOS Y MIOFIBROBLASTOS CARDÍACOS (LPS modulates COX's and iNOS expression in cardiac fibroblasts and myofibroblasts).

Muñoz-Rodríguez, C.¹; García, L.²; Díaz-Araya, G.¹.

¹Laboratorio de Farmacología Molecular, ²Laboratorio de Transducción de señales moleculares, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (clodito@ciq.uchile.cl).

El receptor de tipo Toll-4 (TLR4) y los receptores de cininas (B1R y B2R) están presentes en el tejido cardíaco; median la respuesta inflamatoria y participan en el proceso de reparación posterior al daño. En los fibroblastos (FC) y miofibroblastos cardíacos (MFC), demostramos que la activación de TLR-4 por LPS induce la expresión de B1R. Por otro lado, en estas mismas células demostramos que las cininas (BK y DAKD) al unirse a sus respectivos receptores, activan las vías de señalización intracelular que conducen a la reducción de los niveles de colágeno I, a través de eNOS y de las COXs (por producción de NO y de PGI₂). Por lo tanto, el objetivo de esta propuesta fue demostrar que TLR-4 induce la expresión de COX-1, COX2 e iNOS, potenciando la cascada transduccional activada por cininas.

Los FC y MFC se obtuvieron de ratas Sprague-Dawley neonatas, se estimularon con LPS (1 µg/ml, 0-72 horas), y posteriormente se realizó IWB para determinar los niveles de COX-1, COX-2 e iNOS. También se midieron los niveles de colágeno I al pretratar FC y MFC con LPS (24 y 48 horas) estimulados con DAKD (10 µM) durante 48 horas. Los resultados mostraron que LPS aumentó los niveles de COX1, COX2 e iNOS, de forma tiempo dependiente en ambos fenotipos celulares. Del mismo modo, el pretratamiento con LPS y su posterior estimulación con DAKD produjeron una mayor reducción de los niveles de colágeno I en FC respecto de aquellos solo estimulados con DAKD.

Agradecimientos: FONDECYT 1130300, Beca CONICYT 21120401

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

077. ALTERACIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE ÍLEON DE RATA POR ACCIÓN DE POLY(I:C), AGONISTA DE TLR3 (Alteration of rat ileum permeability induced by poly(I:C), an agonist of TLR3).

Olavarría-Ramírez, L.; Bravo, J.A.; Julio-Pieper, M.

Grupo de Neurogastrobioquímica, Laboratorio de Química Biológica, Instituto de Química, Facultad de ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile (ifernandaor@gmail.com).

El intestino es un órgano altamente expuesto a microorganismos, que ha desarrollado un sistema de barrera contra patógenos como bacterias y virus. Esta barrera es un punto crítico de patologías como la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, que tienen en común el aumento de la permeabilidad intestinal. Por otra parte, se ha descrito que la cascada de señalización del receptor tipo Toll 3 (TLR3, que reconoce antígenos virales) está involucrada en la función barrera de otros tejidos. Así fue demostrado en cultivos primarios de células de epitelio nasal y en barrera hematoencefálica. Además, se sabe que TLR3 se expresa en células epiteliales del intestino, sin embargo hasta hace poco se desconocía su función en la barrera intestinal. Nuestro grupo demostró que poly(I:C), agonista de TLR3, disminuye significativamente y de manera aguda la permeabilidad de colon a macromoléculas (40 kDa). Por otra parte, el intestino delgado presenta una permeabilidad basal mayor a la de colon. El íleon es el segmento de intestino delgado con la mayor población microbiana. Nuestro objetivo fue evaluar la función de TLR3 en la permeabilidad de íleon de rata utilizando poly(I:C), y empleando la cámara de Ussing. Una dosis de 200 µg/mL de poly(I:C) disminuyó la resistencia eléctrica transepitelial (RET) de manera significativa a los 60 y 90 minutos de incubación, indicando que este ligando induce un aumento agudo de la permeabilidad de íleon.

Este resultado sugiere que existe una diferencia funcional en la señalización de TLR3 entre íleon y colon frente a un análogo viral.

Agradecimientos: Fondecyt 1130213

Patrocinante: Julio-Pieper, M.

078. LPS PREVIENE LA PÉRDIDA DE VIABILIDAD DE FIBROBLASTOS CARDÍACOS INDUCIDA POR ISQUEMIA/REPERFUSION SIMULADA: ROL PROTECTOR DEL TLR4 (LPS prevents lost of cardiac fibroblast viability induced by ischemia/reperfusion: protective role of TLR4).

Queirolo, C.¹; Ayala, P.¹; García, L.²; Díaz-Araya, G.¹

¹Laboratorio de Farmacología Molecular Cardiovascular, ²Laboratorio de Transducción de Señales Moleculares de la Célula, Facultad de Ciencias, Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (queirolof@qf.uchile.cl).

Nuestro trabajo estudió la capacidad cito-protectora ejercida por LPS sobre fibroblastos cardíacos (FC) sometidos a un modelo de isquemia/reperfusión *in vitro* (I/R) e indagó las vías transduccionales implicadas en este efecto.

FC de ratas neonatas fueron sometidos a 8/16 h de I/R, y se evaluó el efecto del pre-condicionamiento con LPS durante 16 y 24 h antes de la I/R, y el efecto de LPS durante la isquemia, la reperfusión o ambos, es decir I/R. La viabilidad celular se evaluó mediante MTT y conteo celular; y se determinó mediante western blot los niveles de las procaspasas 8 y 3. El pre-condicionamiento con LPS durante 24 o 16 h, y el tratamiento durante la isquemia o reperfusión, no mostró un efecto cito-protector al daño producido por isquemia/reperfusión. Sin embargo, LPS mostró un efecto citoprotector cuando se incubó de manera conjunta durante la isquemia y la reperfusión. Utilizando diversos inhibidores de las vías activadas por LPS, demostramos que el efecto cito-protector es mediado a través del receptor TLR4 y las vías de señalización PI3K/Akt y ERK1/2. La I/R también activó el procesamiento de las procaspasas 8 y 3; sin embargo, la activación de TLR4 por LPS previno, el procesamiento de las procaspasas 8 y 3 inducido por I/R. Del mismo modo, las vías PI3K/Akt y ERK1/2 participan en la prevención del procesamiento de la procaspasa 8 ejercido por LPS, pero no tienen efecto en la activación de la caspasa 3.

Conclusión: los resultados dan cuenta del efecto cito-protector y antiapoptótico ejercido por LPS a través de TLR4 vía PI3K/Akt y ERK1/2 frente a la muerte de FC inducida por I/R.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1130300 y Beca de Apoyo a Realización de Tesis Doctoral 24110016.

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

079. PENTAMIDINA ANTAGONIZA EL EFECTO DE BENZNIDAZOL EN UN MODELO *IN VIVO* DE INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* (Pentamidine antagonizes the effect of benznidazole in an *in vivo* model of *Trypanosoma cruzi* infection).

Seguel, V.¹; Campos-Estrada, C.¹; Liempi, A.²; Castillo, C.²; Sandoval, A.²; Castro, L.¹; Cortés, L.¹; Kemmerling, U.²; Maya, J.D.¹; López-Muñoz, R.¹

¹Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (veroseguel@gmail.com).

Pentamidina, diamina aromática utilizada en el tratamiento de leishmaniasis y tripanosomiasis africana, presenta actividad anti-*T. cruzi* (agente causal de la enfermedad de Chagas), y bloquea el transporte de poliaminas necesarias para la formación de tripantotión, principal antioxidante del parásito. El tratamiento actual de la enfermedad de Chagas se basa en el uso de dos fármacos (benznidazol y nifurtimox), pero su efectividad es limitada en casos crónicos y, además, presentan reacciones adversas que llevan al fracaso terapéutico en pacientes con cuadro agudo. El objetivo de este estudio es determinar el efecto de la combinación entre pentamidina y benznidazol, en un modelo *in vivo* de infección con *T. cruzi*. Ratonés BALB/c fueron infectados con tripomastigotes de *T. cruzi* (cepa Y). Al cuarto día post infección se inicia el tratamiento de 10 días con benznidazol (BNZ, 5 y 20 mg/kg/día PO) solo o combinado con pentamidina (PTM, 4 mg/kg/día IP). Como parámetro de efectividad se evaluó sobrevida, parasitemia, carga parasitaria mediante qPCR e infiltrado inflamatorio mediante histopatología en tejido cardíaco. La combinación con pentamidina disminuyó la efectividad de BNZ-5 mg/kg. La sobrevida media para el grupo control fue de 14 días, mientras que para BNZ-5 fue de 17 días ($p < 0.05$ respecto al control). BNZ-5+PTM presentó una sobrevida de 15 días. BNZ-5+PTM también tuvo significativamente mayor parasitemia que BNZ-5 al día 14 ($p < 0.05$). Por otra parte, pentamidina no modificó el efecto antichagásico de benznidazol 20 mg/Kg. Pentamidina antagoniza la actividad antichagásica de benznidazol en este modelo *in vivo* de infección.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 11110182.

Patrocinante: López-Muñoz, R.

080. EFECTO DEL ÁCIDO α -LIPOICO SOBRE LA VIABILIDAD DE MACRÓFAGOS RAW 264.7 (Effect of α -Lipoic Acid on RAW 264.7 macrophage viability).

Toro, B.¹; Faúndez, M.¹

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología Molecular, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile (bitoro@uc.cl).

La vía de la 5-lipoxigenasa, (5-LOX) ha demostrado tener un rol importante en la sobrevida y crecimiento de algunas líneas celulares, en este sentido se demostró que para macrófagos murinos RAW 264.7, zileuton, un conocido inhibidor de la 5-LOX presentó un valor de IC₅₀ de 50 μ M sobre la viabilidad de estas células (Nieves and Moreno *et al* 2006). Por otra parte, trabajos previos en nuestro laboratorio han demostrado que Ácido α -lipoico (AL) posee similitud estructural con el LTA₄, sustrato endógeno para la síntesis de todos los leucotrienos bioactivos, además, nuestros resultados han demostrado un potente efecto inhibidor del ácido α -lipoico sobre la síntesis de leucotrienos utilizando enzimas recombinantes o fracciones subcelulares. En este trabajo se estudió el efecto del ácido α -lipoico sobre la viabilidad de células RAW 264.7

Nuestros resultados indicaron que el valor de IC₅₀ sobre la viabilidad de células RAW tratadas con AL fue cercano a 90 μ M, dato comparable con el obtenido con zileuton por otros investigadores, interesantemente, al éster metílico de ácido α -lipoico, no mostró efecto sobre la viabilidad en este tipo de células.

Actualmente nos encontramos evaluando si la disminución de la viabilidad celular inducida por AL puede ser revertida por LTB₄ y LTC₄.

Agradecimientos: Proyectos FONDECYT de iniciación en investigación N°11121358 a M.F.

Patrocinante: Faúndez, M.

081. EFECTO DEL ÁCIDO ALFA-LIPOICO SOBRE LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE LA LEUCOTRIENO A₄ HIDROLASA RECOMBINANTE HUMANA (Effect of alpha-lipoic acid on catalytic activity of human leukotriene A₄ hydrolase).

Torres, M.J.¹; Pessoa, C.D.²; Romero, J.²; Faúndez, M.¹

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología Molecular. ²Laboratorio de Diseño y Síntesis de Ligandos Canabinoides. Departamento de farmacia, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile (mitorres@uc.cl).

Los leucotrienos son una familia de mediadores lipídicos asociados a procesos inflamatorios agudos y crónicos. El leucotrieno B₄, corresponde a unos de los productos de la cascada de la vía 5-lipoxigenasa, y es un poderoso agente quimioatrayente, cuya síntesis es catalizada por la leucotrieno A₄ hidrolasa (LTA₄H). Además de su actividad epóxido hidrolasa también presenta actividad aminopeptidasa. Los sustratos endógenos para esta enzima son el leucotrieno A₄ (LTA₄) y el péptido Prolina-Glicina-Prolina (PGP). Por lo que, moléculas estructuralmente similares a estos sustratos podrían modular la actividad catalítica de esta enzima. Nuestro grupo de investigación ha demostrado que el compuesto endógeno, ácido lipoico (AL), es capaz de inhibir otras enzimas para la que LTA₄ es sustrato, por lo que postulamos que AL es capaz de inhibir la actividad catalítica de la LTA₄H. Para evaluar el efecto del AL sobre la actividad aminopeptidasa se utilizó el leucotrieno A₄ hidrolasa recombinante humana y el sustrato trazable L-alanina-p-nitroanilida. El resultado mostró que AL inhibe potentemente la actividad aminopeptidasa. Con el objetivo de determinar si AL es capaz de inhibir otras aminopeptidasas, se evaluó la capacidad de hidrolizar tanto L-alanina-p-nitroanilida como caseína por parte de aminopeptidasas de membrana y de citosol de células tumorales de pulmón (H-1975) y termolisina respectivamente. En contraste con lo observado con LTA₄H, AL no fue capaz de inhibir la actividad aminopeptidasa de los otros sistemas. Actualmente se está evaluando el efecto de ácido α -lipoico sobre la actividad epóxido hidrolasa y del lipoato metil-éster sobre ambas actividades enzimáticas.

Agradecimientos: Proyectos FONDECYT de iniciación en investigación N°11121358 a M.F.

Patrocinante: Faúndez, M.

082. TGF- β 1 INDUCE LA DIFERENCIACIÓN DEL FIBROBLASTO CARDIACO A TRAVÉS DE LA REGULACIÓN DE FOXO1 Y FOXO3A (TGF- β 1 induces cardiac fibroblast differentiation through the regulation of FoxO1 and FoxO3a).

Vivar-Sánchez, R.^{1,2}; Chiong, M.¹; Díaz-Araya, G.^{1,2}

¹Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS) y Centro Estudios Moleculares de la Célula (CEMC). ²Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (raul.vivar@postqyf.uchile.cl).

Los fibroblastos cardíacos (FC) son los principales responsables de la secreción de componentes de matriz extracelular en el tejido cardíaco, y como consecuencia de algún daño se diferencian a un fenotipo mucho más activo y secretor denominado miofibroblasto. TGF- β 1 es crucial para la diferenciación del FC y por ende para la promoción de fibrosis cardíaca. Las proteínas FoxO son factores de transcripción que actúan junto a TGF- β 1 en variadas circunstancias pato-fisiológicas. Nosotros quisimos determinar la participación de FoxO1 y FoxO3a en la diferenciación de FC de rata neonata inducida por TGF- β 1. Nuestros resultados indican que TGF- β 1 (10ng/mL, 48h) indujo la diferenciación del FC, aumentando los factores profibróticos, colágeno I, CTGF, p21^{cip} y α -SMA (por Westernblot) y promoviendo un efecto citostático, en FC estimulados con suero fetal bovino (por conteo celular y citómetro de flujo). Coincidente con la diferenciación del FC, TGF- β 1 indujo el aumento de FoxO1 y la degradación de FoxO3a (por Westernblot). El silenciamiento génico de FoxO1 (siRNA) evitó el efecto profibrótico y citostático de TGF- β 1 en FC. Sorprendentemente, la degradación de FoxO3a por TGF- β 1 fue inhibida al silenciar FoxO1, indicando la importancia de dicha proteína en la regulación de FoxO3a en FC. Contrariamente, el silenciamiento génico de FoxO3a potenció el efecto profibrótico y citostático de TGF- β 1 en FC, sin afectar el nivel de FoxO1. Nuestros resultados sugieren que TGF- β 1 regula positivamente a FoxO1 y negativamente a FoxO3a, involucrándolos directamente en la diferenciación del FC. Finalmente FoxO1 y FoxO3a asoman como hipotéticos nuevos blancos farmacológicos para la fibrosis cardíaca.

Agradecimientos: Proyecto post-doctoral 3130657 (RVS) – Proyecto Fondecyt 1130300 (GD) - Proyecto Fondap ACCDis 15130011.

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

083. LA BIOENERGÉTICA MITOCONDRIAL DE CELULAS TUMORALES DE MAMA ES AFECTADA POR UNA ISOQUINOLINQUINONA (Mitochondrial bioenergetics of breast cancer cells is affected by an isoquinolinequinone).

Córdova-Delgado, M.^{1,2}; Muñoz-Córdova, F.¹; Urra, F.A.^{1,2,3}; Ramírez-Rodríguez, O.¹; Pavani, M.²; Ferreira, J.²; Cárdenas, C.³; Araya-Maturana, R.¹

¹Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, ²Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Programa de Farmacología Molecular y Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile y ³Laboratorio de Metabolismo Celular y Bioenergética, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (cordovadelgado@ug.uchile.cl).

El metabolismo tumoral ha surgido como un interesante blanco para atacar las células neoplásicas. En este trabajo demostramos que una isoquinolinquinona (MQ) es capaz de afectar la bioenergética mitocondrial disminuyendo la proliferación de células tumorales de mama, además, este efecto es incrementado al combinarlo con 2-desoxiglucosa (2-DG). Con el propósito de evaluar el efecto del compuesto MQ sobre la bioenergética mitocondrial, se midió la velocidad de consumo de O₂ (OCR) celular como un indicador de la fosforilación oxidativa utilizando un XF96 Extracellular Flux Analyzer (SeahorseBioscience) en células tumorales MCF-7 y MDA-MB-231. MQ produce cambios en los estados respiratorios mitocondriales en las células tumorales, que se refleja en un incremento en OCR basal, una disminución significativa de la máxima respiración mitocondrial y del ATP-linked OCR.

Se evaluaron los efectos de MQ sobre los principales parámetros bioenergéticos: MQ disminuye los niveles de ATP y NAD(P)H totales, con respecto al control, y produce un colapso del $\Delta\psi_m$ en las líneas tumorales de mama tras 2 horas de exposición. Además perturbaciones a nivel mitocondrial pueden aumentar la producción de ROS, por lo que estudiamos el efecto de MQ sobre este. El compuesto produce un incremento significativo de los niveles de ROS mitocondrial, en relación al control, en ambas líneas tumorales tras 2 horas de exposición. Interesantemente, la combinación de MQ con el inhibidor glicolítico, 2-DG, es más eficaz en disminuir la proliferación de las células tumorales que ambos agentes por sí solos, y con un efecto más atenuado en la línea normal MCF10A.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento de FONDECYT, Proyectos 1140753 y Anillo ACT-1107 (RAM), 1130772 (JF), 1120443 (CC), beca de Magíster Nacional (MC-D), Doctorado Nacional (FU) y proyecto FONDECYT de postdoctorado No. 3120235 (ORR).

Patrocinante: Ferreira, J.

084. ESTUDIO DE DESACOPLANTES MITOCONDRIOTRÓPICOS DERIVADOS DE ÁCIDO 2-HIDROXI BENZOICO COMO AGENTES CITOTÓXICOS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA HUMANAS (Study of mitochondriotropic uncouplers derived from 2-hydroxybenzoic acid as cytotoxic agents in human breast cancer cells).

Fuentes-Retamal, S.¹; Guzmán-Rivera, D.¹; Sandoval-Acuña, C.¹; Jara, J.²; Castro-Castillo, V.³; Madrid-Rojas, M.³; Parra, E.⁴; Ferreira, J.¹

¹Laboratorio de Metabolismo Energético y Cáncer, Programa Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Laboratorio de Farmacología y Farmacogenética, IICO, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. ³Laboratorio de Química Experimental, Departamento de Química, UMCE. ⁴Laboratory of Experimental Biomedicine, University of Tarapaca, Campus Esmeralda, Iquique, Chile (sebastianfuentes@gmail.com).

Estudios previos demostraron que derivados del ácido gálico unidos a trifenílfosfonio mediante una cadena alifática de diez carbonos son efectivos agentes citotóxicos, desacoplando la fosforilación oxidativa en células de cáncer de mama murinas. En el presente trabajo se muestra dicho efecto en células de cáncer de mama humano y también se ilustra la relación estructura-actividad de otros derivados de este compuesto. Se analizaron derivados mono- y di-hidroxiados del ácido 2-hidroxibenzoico en diferentes líneas celulares que se diferencian en su perfil metabólico y en la expresión de receptores de crecimiento y hormonales. Se observó que todos los nuevos derivados presentaron un mayor efecto citotóxico que los previamente estudiados, debido a una mayor actividad desacoplante de la fosforilación oxidativa. En forma exhaustiva fueron estudiadas las líneas celulares, MCF7 y su variante metastásica MDA-MB-231, la cual posee un fenotipo altamente glicolítico. Se evidenció que los derivados presentan un tropismo mitocondrial, afectando las funciones de este organelo debido a que provocan una disminución del potencial de membrana, lo que conlleva a una disminución de la razón NAD(P)H/NAD(P)⁺ y una caída del ATP total, parcialmente compensada por la actividad adenilato kinasa y la actividad AMP-kinasa. Como consecuencia, se desencadena una muerte de tipo apoptótica. Además, se observó que los derivados son capaces de inhibir la migración celular en la línea metastásica. Como conclusión, todas las moléculas analizadas presentaron actividad citotóxica en células de cáncer humanas y la modificación del grupo farmacóforo aumentó dicha actividad.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1130772.

Patrocinante: Ferreira, J.

085. PRODUCCIÓN DE ROS MITOCONDRIAL INDUCIDO POR UNA TERPENIL NAFTOQUINONA: IMPLICANCIAS EN LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (Mitochondrial ROS production induced by a terpenyl naphthoquinone: Implications on proliferation of breast cancer cell).

Guzmán-Rivera, D.^{1,2}; Fuentes-Retamal, S.^{1,2}; Urra, F.A.^{1,2}; Jara, J.³; Parra, E.⁴; Ferreira, J.² y Araya-Maturana, R.¹

¹Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, ²Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Programa de Farmacología Molecular y Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Laboratorio de Farmacología y Farmacogenética, IICO, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. ⁴Laboratory of Experimental Biomedicine, University of Tarapaca, Campus Esmeralda, Iquique, Chile. (dguzmanrivera@hotmail.com).

6-(4-metil-pent-3-enil)-1,4-naftoquinona (MPENQ) afecta la proliferación de diferentes tipos de células tumorales, sin embargo, el mecanismo por el cual ejerce su acción no ha sido aún determinado. La mitocondria es reconocida por controlar la viabilidad, producción de ROS y energía celular. Nosotros hipotetizamos que MPENQ inhibe la proliferación en células tumorales por elevada producción de ROS a nivel mitocondrial. Para evaluar esto, se utilizaron células de cáncer de mama humano MCF7 y su variante metastásica MDA-MB-231, exhibiendo un efecto antiproliferativo con valores de IC₅₀ menores de 20µM. La comparación con la línea de epitelio mamario normal MCF10A demuestra que MPENQ es selectivo para las células tumorales a 5 y 10µM. El efecto sobre el metabolismo celular y el consumo de oxígeno fueron evaluados mediante un Analizador de Flujo XF⁹⁶. MPENQ inhibió significativamente la respiración máxima mitocondrial, sugiriendo una interacción con la cadena transportadora de electrones (CTE). En mitocondrias aisladas de células de adenocarcinoma mamario TA3/Ha, MPENQ inhibió el flujo de electrones de la cadena respiratoria a nivel de los Complejos I y II. Consistente con esto, MPENQ disminuyó los niveles intracelulares de ATP y aumentó la producción de superóxido mitocondrial. Además, afectó la viabilidad a las 24h, produciendo muerte celular apoptótica. La presencia de N-acetilcisteína y catalasa durante 48h de cultivo previno el efecto antiproliferativo de MPENQ, sugiriendo que su efecto está mediado por la generación de ROS. En conclusión, MPENQ disminuye la proliferación de células tumorales por inhibición de la CTE con incremento de los niveles de ROS, produciendo apoptosis.

Agradecimientos: Proyectos FONDECYT No.1110176 (RAM), 1130772 (JF) y Anillo ACT-1107 (RAM)

Socio Patrocinante: Ferreira, J.

086. EFECTOS DE DELFINIDINA SOBRE EL TRANSPORTE INTESTINAL DE GLUCOSA Y SEÑALIZACIÓN MEDIADA POR CALCIO EN ENTEROCITOS (Effects of delphinidin on intestinal glucose transport and calcium mediated signaling in enterocytes).

Hidalgo, J.^{1,2}; Teuber, S.¹; Meneses, C.¹; Morera, F.¹; Hidalgo, M.A.¹; Flores, C.³; Villalobos, C.⁴; Burgos R.A.¹

¹Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. ²Programa de Doctorado en Ciencias Médicas Universidad Austral de Chile. ³Centro de Estudios Científicos (CECS), Valdivia, Chile. ⁴Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM), Valladolid, España (ji.hidalgo.godoy@gmail.com).

Las antocianidinas, un tipo de flavonoides presentes en las frutas, han demostrado poseer efectos antihiperlipemiantes en animales y humanos. Su mecanismo de acción ha resultado difícil de explicar ya que poseen una escasa biodisponibilidad in vivo; sin embargo, posterior a su ingesta, alcanzan concentraciones suficientes en el intestino como para generar un efecto local sobre el epitelio. Evaluamos el efecto de la antocianidina delphinidina sobre la absorción de glucosa en preparaciones intestinales ex vivo de ratones RF/J.

Se aislaron anillos evertidos de yeyuno, los cuales fueron estimulados con vehículo, delfinidina, o florizina, un inhibidor del transporte de glucosa intestinal, para luego medir la captación de glucosa marcada radiactivamente en un contador de centelleo. Con el fin de estudiar un posible mecanismo de señalización celular gatillado por delfinidina en el intestino, utilizamos cultivos de la línea celular humana similar a enterocito HT-29. Las células adheridas fueron cargadas con la sonda de calcio FURA-2 para luego ser estimuladas con delfinidina y registrar mediante microscopía en célula única los cambios producidos en las concentraciones intracelulares de calcio. Los experimentos de transporte en yeyuno de ratón mostraron que delfinidina es capaz de inhibir la captación intestinal de glucosa, mientras que los resultados en células en cultivo muestran que delfinidina, aún en concentraciones bajas, induce la aparición de oscilaciones de calcio intracelular, cuyas características sugieren la activación de un receptor farmacológico. Estos resultados podrían explicar parte del efecto antihiperlipemiantes del consumo de antocianidinas y contribuyen a dilucidar los posibles mecanismos de señalización involucrados.

Agradecimientos: Financiado por proyecto INNOVA CORFO 12IDL2-16254 (R.B.) y Beca CONICYT 21130644 (J.H.)

Patrocinante: Burgos, R.A.

087. LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR B1 DE CININAS INDUCE LA MIGRACIÓN E INHIBE LA PROLIFERACIÓN DE QUERATINOCITOS HUMANOS NEOPLÁSICOS (Stimulation of the kinin B1 receptor induces migration and inhibits cell proliferation of neoplastic human keratinocytes).

Matus, C.E.^{1,3}; Pavicic, M.F.³; Ehrenfeld, P.³; Budinich, E.³; Andrade, Y.³; Sarmientos, J.M.²; Burgos, R.A.¹; Figueroa, C.D.³

¹Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Chile. ²Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Chile. ³Instituto de Anatomía, Histología y Patología Universidad Austral de Chile, Chile. (matus.carola@gmail.com).

Estudios realizados en piel humana normal han demostrado que los queratinocitos humanos expresan los receptores B1 (RB1) y B2 (RB2) de cininas. Nuestros estudios muestran que la estimulación de estos receptores activan mecanismos de señalización intracelular, involucrados en múltiples procesos biológicos como proliferación y diferenciación celular, migración y cáncer. La presencia del RB1 en queratinocitos humanos neoplásicos se ha demostrado sólo mediante ensayos de unión del agonista B1 radiactivo, el que se caracteriza por su baja afinidad al receptor. Nuestro objetivo fue determinar la presencia del RB1 en la línea celular de queratinocitos humanos neoplásicos A431 y su efecto sobre vías de señalización intracelular, proliferación y migración. Mediante *western blots*, inmunocitoquímica y RT-PCR determinamos que las células A431 expresan el RB1 y que su estimulación produce la transactivación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y la sucesiva fosforilación de las MAPK ERK1/2. Estos eventos fueron bloqueados por el inhibidor de la tirosina quinasa intrínseca del EGFR, AG1478. La estimulación del RB1 incrementó la actividad migratoria de las células A431, pero no modificó la incorporación de bromodeoxiuridina. Es más, la estimulación tanto con el agonista B1 como B2 resultó en una proliferación menor a la observada en las células no estimuladas. La estimulación del RB1 en células A431 desencadena la activación de vías de señalización tales como MAPK ERK1/2 a través de la transactivación del EGFR. El RB1 puede ser importante en la modulación de la migración de queratinocitos neoplásicos y en el control de su tasa de proliferación.

Agradecimientos: FONDECYT 3130385, Chile; DID UACH.

Patrocinante: Burgos, R.A.

088. LA REPROGRAMACIÓN METABÓLICA SENSIBILIZA A EFECTOS ANTITUMORALES MEDIADOS POR LA INHIBICIÓN DE LA BIOENERGÉTICA MITOCONDRIAL EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (Metabolic reprogramming sensitizes to anti-cancer effects mediated by mitochondrial bioenergetics inhibition in breast cancer cells).

Muñoz-Córdova, F.¹; Urra, F.A.^{1,2,3}; Cordova-Delgado, M.^{1,2}; Ferreira, J.²; Cárdenas, C.³; Araya-Maturana, R.¹

¹Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. ²Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Programa de Farmacología Molecular y Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Laboratorio de Metabolismo Celular y Bioenergética, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (fmunozcordova@gmail.com).

El remodelamiento metabólico en células tumorales favorece la metástasis y resistencia a la muerte celular. Desde un estudio de relación estructura-actividad, identificamos a la quinona F4 como un nuevo inhibidor del complejo I. El efecto de F4 sobre el metabolismo de células de cáncer de mama humano MCF7 y MDA-MB-231 fue evaluado en tiempo real usando un XF96e extracellular-analyzer. En ambas líneas celulares, F4 inhibió la respiración mitocondrial basal y la respiración desacoplada, confirmando su interacción con la cadena transportadora de electrones (ETC). Interesantemente, la inhibición de la bioenergética mitocondrial produjo un aumento de acidificación del medio extracelular, sugiriendo un temprano remodelamiento metabólico hacia la glicolisis. Además, F4 disminuyó la proliferación en células tumorales, siendo revertida por la incubación con metil-succinato, un sustrato mitocondrial que restituye el flujo de electrones desde el complejo II. Los niveles de ATP intracelulares fueron disminuidos a un tiempo corto de exposición, siendo normalizados posteriormente. El efecto anti-proliferativo de F4 fue disminuido por la presencia de glucosa, sugiriendo un predominio de la glicolisis en el metabolismo celular. La activación indirecta de PDH vía inhibición de PDK por dicloroacetato reprograma el metabolismo glicolítico hacia la obtención de ATP por la fosforilación oxidativa (OXPHOS); células MCF7 y MDA-MB-231 con esta reprogramación fueron sensibilizadas al efecto antiproliferativo de F4 en presencia de alta glucosa. En conclusión, nuestros resultados muestran que la reprogramación metabólica hacia la OXPHOS en presencia de la inhibición de la bioenergética mitocondrial es una estrategia de interés para el desarrollo de la farmacología del cáncer.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento de FONDECYT RAM (1140753), Anillo ACT 1107, (CC) (1120443), JF (1130772), Beca Doctoral (FU).

Patrocinante: Ferreira, J.

089. LA ESTIMULACIÓN DEL RECEPTOR B1 DE CININAS EN CÉLULAS QUE PARTICIPAN DEL MICROAMBIENTE TUMORAL INDUCE LA EXPRESIÓN/SECRECIÓN DE VEGF Y METALOPROTEASAS (Stimulation of kinin B1 receptor expressed by cells that are part of tumor microenvironment induce the secretion/expression of VEGF and metalloproteases).

Pavicic, M.F.¹; Matus, C.E.^{1,2}; Budinich, E.¹; Concha, M.¹; Figueroa, C.D.¹; Ehrenfeld, P.².

¹Laboratorio de Patología Celular, Instituto de Anatomía, Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Chile. ²Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Chile. (francisca.pavicic@gmail.com).

La interacción entre células tumorales y su microambiente facilita la progresión tumoral estimulando procesos tales como la angiogénesis y la degradación de la matriz extracelular. La participación del receptor B1 de cininas (RB1), cuya expresión aumenta en procesos inflamatorios o de injuria celular, eventos muy relacionados a las neoplasias, aún no ha sido

evaluada. Nuestro objetivo fue determinar si la estimulación del RB1 con su agonista Lis-des[Arg⁹]bradicinina (LDBK), induce la secreción/expresión de VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial) y de metaloproteasas 2 y 9, en células que forman el microambiente tumoral (neutrófilos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales). Las células fueron estimuladas con LDBK y se observó mediante *western blots* y ELISA un aumento en la expresión y secreción de VEGF en neutrófilos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y células de cáncer de mama, MCF-7. Para evaluar si la liberación de este factor induce brotes angiogénicos se realizaron cultivos 3D, en que esferoides de células endoteliales embebidos en matriz de colágeno fueron estimulados con medio condicionado de células MCF-7 estimuladas con LDBK. Este diseño mostró que los medios condicionados estimulan la generación de yemas angiogénicas. Como control se utilizaron medios condicionados obtenidos desde células MCF-7 en que se silenció el RB1 con un siRNA comercial. Además, la estimulación de células del microambiente tumoral con LDBK aumenta la liberación de metaloproteasas. El RB1, expresado por las diferentes células del microambiente tumoral, modula la expresión y secreción de VEGF y metaloproteasas 2 y 9, favoreciendo la angiogénesis y la diseminación tumoral.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 11090292, Chile; DID UACH; Escuela de Graduados de Medicina UACH.

Patrocinante: Hidalgo, M.A.

090. EVALUACIÓN PRECLÍNICA ANTITUMORAL DE CATIONES LIPOFÍLICOS DESLOCALIZADOS DERIVADOS DEL ÁCIDO GÁLICO (Preclinical antitumor evaluation of delocalized lipophilic cations gallic acid derivatives).

Peredo, L.¹; Jara, J.¹; Castro-Castillo, V.²; Madrid-Rojas, M.²; Kemmerling, U.³; Ferreira, J.¹

¹Laboratorio de Metabolismo Energético y Cáncer, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Laboratorio de Química Experimental, Departamento de Química, UMCE. ³Laboratorio de Mecanismos de Infección Parasitaria, Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (lperedo@ciq.uchile.cl).

Derivados alquílicos del ácido gálico conjugados con el catión TPP⁺, se acumulan selectivamente en la mitocondria de células tumorales, guiados por su mayor potencial de membrana. Estos compuestos presentan un efecto desacoplante en células de adenocarcinoma mamario de ratón TA3/Ha, que conlleva a una disminución en la síntesis de ATP acoplada al sistema de fosforilación oxidativa, y posteriormente a la muerte celular. En este trabajo se determinó el efecto antitumoral de TPP⁺C₁₀ y TPP⁺C₁₂ en un modelo murino singénico. Los animales fueron administrados vía i.p. por 28 días con 10 mg/kg peso corporal cada 48 h. Los compuestos no producen toxicidad sistémica a la dosis evaluada. Ambos compuestos disminuyen el crecimiento tumoral respecto al grupo control, siendo significativo a partir del día 18 para TPP⁺C₁₀, produciendo un porcentaje de sobrevida del 70% hasta el día 40 post inoculación. Este efecto, es debido a TPP⁺C₁₀(C₁₂) y no al ácido gálico sólo. Ambos compuestos reducen los niveles de Ki-67 y PCNA (marcadores de proliferación celular). Además, TPP⁺C₁₀ aumenta los niveles de caspasa 3 activa, indicando muerte celular *in vivo*. A nivel mitocondrial, TPP⁺C₁₀ disminuye la señal de TOMM-20 indicando disminución de la masa mitocondrial, además produce alteración en la intensidad de fluorescencia de NAD(P)H y de TMRM, indicando una alteración en el estado redox mitocondrial y el potencial de membrana mitocondrial, respectivamente.

En conclusión, los cationes derivados de ácido gálico impiden el crecimiento tumoral *in vivo*, aumentan la sobrevida de ratones portadores de tumor, sin efectos tóxicos sistémicos.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 1130772 (JFP), Proyecto FONDECYT 1120230 (UK), Beca CONICYT 21110084.

091. IDENTIFICACIÓN DE UN AGENTE DESACOPLANTE DE LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA CON EFECTOS ANTI-PROLIFERATIVOS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA (Identification of an uncoupling agent of oxidative phosphorylation with anti-proliferative effects on breast cancer cells).

Ramírez, M.P.¹; Aguilera, A.¹; Urrea, F.A.^{1,2,3}; Córdova-Delgado, M.^{1,2}; Muñoz-Córdova, F.¹; Pavani, M.²; Ferreira, J.²; Araya-Maturana, R.¹

¹Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, ²Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Programa de Farmacología Molecular y Clínica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile y ³Laboratorio de Metabolismo Celular y Bioenergética, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (mariapazramirezlopez@gmail.com).

Las células tumorales exhiben la capacidad de remodelar su metabolismo dependiendo de la disponibilidad de sustratos, favoreciendo una alta tasa proliferativa y alta capacidad invasiva. Además, la mitocondria cumple un rol importante en el establecimiento de estas características tumorales. Nos propusimos identificar nuevos compuestos capaces de afectar la proliferación dependiente de la glicólisis o glutaminólisis en células tumorales. Células de cáncer de mama humano MDA-MB-231, que presenta un fenotipo triple negativo, metastásico y con elevada capacidad de remodelamiento metabólico, fueron expuestas bajo condiciones de alta glucosa (25mM) y galactosa (10mM), dos condiciones donde predomina un máximo metabolismo glicolítico y oxidativo, respectivamente, y a las 48h fue evaluado el efecto de los compuestos sobre la proliferación. Se calculó el índice de "compuestos sensibilizadores de nutrientes" Sglu/gal. Un valor positivo de Sglu/gal, identificó a compuestos que inhiben la proliferación por acción mitocondrial y un valor negativo de Sglu/gal, indicó compuestos que inhiben la glicólisis. Entre todos los compuestos evaluados, hidroquinona P1 exhibió el mayor valor Sglu/gln=+1.51, sugiriendo que afecta la proliferación mantenida por el metabolismo mitocondrial. Consistente con esto, en mitocondrias aisladas P1 produjo aumento de la respiración mitocondrial en estado 4o sin inhibición de la respiración en estado 3_{ADP}, y este efecto fue altamente dependiente de la fluidez de la membrana mitocondrial, sugiriendo que es un agente desacoplante protonóforo de la fosforilación oxidativa (OXPHOS). Efectos sobre niveles de ATP y proliferación fueron dependientes de la disponibilidad de glucosa. En conclusión, se presenta un nuevo agente desacoplante de OXPHOS con efectos anti-tumorales.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento de FONDECYT 1140753 (RAM), Anillo ACT 1107, (CC) (1120443), JF (1130772), Beca Doctoral (FU).

Patrocinante: Ferreira, J.

092. EFECTO DESACOPLANTE MITOCONDRIAL DE LOS ÁCIDOS GENTÍSICO Y PROTOCATECUICO UNIDOS A CATIONES LIPOFÍLICOS DESLOCALIZADOS Y SU POTENCIAL CITOTOXICIDAD EN CÉLULAS DE CÁNCER MAMARIO HUMANO (Mitochondrial uncoupling effect of gentisic and protocatechuic acids linked to delocalized lipophilic cations and their potential cytotoxicity in human breast cancer cells).

Sandoval-Acuña, C.^{1,2}; Fuentes-Retamal, S.¹; Guzmán-Rivera, D.¹; Pavani, M.¹; Speisky, H.²; Castro-Castillo, V.³; Madrid-Rojas, M.³; Ferreira, J.¹

¹Laboratorio de Metabolismo Energético y Cáncer, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027 Casilla 70086, C.P: 6510007, Santiago, Chile.

²Laboratorio de Antioxidantes, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, El Líbano 5540, Santiago, Chile.

³Laboratorio de Química Experimental, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Básicas, UMCE, Av. José Pedro Alessandri 774, C.P: 7760197, Santiago, Chile. (casacuna@ciq.uchile.cl).

El mitocondrion ha sido recientemente reconocido como potencial blanco molecular en el tratamiento del cáncer, dado que exhibe un potencial de transmembrana (PTM) significativamente mayor en las células tumorales y por tanto sería más susceptible de ser atacado con derivados catiónicos lipofílicos deslocalizados con trifenilfosfonio (TPP⁺). Resultados previos de nuestro laboratorio mostraron que derivados TPP⁺ del ácido gálico (C₁₀TPP⁺) son citotóxicos y eficaces desacoplares de la generación de PTM en células de cáncer de mama de ratón (TA3/Ha). Con el objetivo de incrementar la eficiencia y la eficacia citotóxica, se sintetizaron nuevos derivados TPP⁺, los ácidos gentísico (GA) y protocatecuico (PCA), y se evaluó su potencial citotoxicidad en diferentes líneas celulares humanas de cáncer de mama. Los resultados muestran que, en comparación con el ácido gálico, GA-TPP⁺ y PCA-TPP⁺ poseen mayor potencia citotóxica en todas las líneas celulares ensayadas. De manera similar, GA-TPP⁺ y PCA-TPP⁺ son más eficaces que el C₁₀TPP⁺ en desacoplar la generación de PTM, tanto en células altamente oxidativas como en aquellas preferentemente glicolíticas. Ambos derivados indujeron, además, una caída de ATP sin alterar el estado redox celular. Finalmente, ambas moléculas indujeron una activación de la apoptosis intrínseca, evidenciada por incrementos en la tinción con anexina V y en la activación de las caspasas 3 y 8. En base a nuestros resultados, postulamos que los derivados de GA-TPP⁺ y PCA-TPP⁺ alteran el funcionamiento mitocondrial, y que tal efecto podría subyacer su citotoxicidad frente a las células de cáncer de mama.

Agradecimientos: Financiado por Beca CONICYT de Gastos Operacionales N° 21120872 a C.S-A. y Proyecto Fondecyt N° 1130772 a J.F.

Patrocinante: Ferreira, J.

PRESENTACIONES EN PANELES: ESTRÉS OXIDATIVO, FARMACOLOGÍA ENDOCRINA, FARMACOLOGÍA CLÍNICA Y TOXICOLOGÍA.

093. EL ÁCIDO 3,4-DIHIIDROXIFENILACÉTICO, UN METABOLITO MICROBIANO DERIVADO DE QUERCETINA PREVIENE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL INDUCIDO POR COLESTEROL EN CÉLULAS β -PANCREÁTICAS (3,4-dihydroxyphenylacetic acid, a microbiota-derived metabolite of quercetin, prevents the oxidative stress and mitochondrial dysfunction in pancreatic β -cells).

Carrasco-Pozo, C.^{1,2}; Castillo, R.³; Chen, C.²; Gotteland, Martin.¹

¹Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina. Universidad de Chile, Chile. ²School of Biomedical Sciences, The University of Queensland, Brisbane, QLD 4072, Australia. ³Programa de Fisiopatología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile (catalinacarrasco@med.uchile.cl).

El colesterol cumple un papel importante en la inducción de la disfunción de las células β -pancreáticas por medio de la generación de estrés oxidativo. Esta disfunción se caracteriza por una deteriorada capacidad de secreción de insulina en respuesta a glucosa. El ácido 3,4 dihidroxifenilacético (ES) es un metabolito microbiano de quercetina y otros flavonoles, que ha sido escasamente estudiado y que presenta propiedades antioxidantes. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto protector de ES contra el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial inducido por colesterol en células β -pancreáticas. En células Min-6, incubadas por 6 horas con colesterol o con colesterol en presencia de ES, se determinó el estrés oxidativo (ROS con DCHF; radicales anión superóxido en citosol y mitocondria con DHE y MitoSox, respectivamente; lipoperoxidación por medio de TBARS; actividad enzimas antioxidantes) y la disfunción mitocondrial (niveles de ATP, potencial de membrana mitocondrial (MMP), actividad de complejos I y II, consumo de oxígeno). ES previno la formación de ROS y la disminución de la actividad de superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, junto con disminuir la lipoperoxidación inducida por colesterol. ES también protegió contra la disfunción mitocondrial inducida por colesterol, previniendo la disminución de ATP, MMP, consumo de oxígeno y actividad del complejo I. ES protege a células β -pancreáticas contra el daño inducido por colesterol, al prevenir el estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. ES surge como molécula de interés farmacológico al promover una protección contra el deterioro de la función pancreática en sujetos una dieta alta en colesterol.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Fondecyt de Iniciación 11130232 y por Australian NHMRC.

Patrocinante: Carrasco-Pozo, C.

094. ASOCIACIÓN ENTRE EL ESTRÉS OXIDATIVO (EOX) Y EL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO (ERE) HEPÁTICO EN ESTADO HIPERTIROIDEO (Association between liver oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in hyperthyroid state).

Cornejo, P.¹; Vargas, R.²; Videla, L.A.²

¹Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Salud y Odontología, Universidad Diego Portales. ²Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (pamela.cornejo@udp.cl).

El EOX inducido por la hormona tiroidea (T_3) en el hígado involucra la oxidación de proteínas, proceso que implica su despliegue con pérdida de la estructura secundaria y terciaria, lo que provoca inestabilidad del proteoma y el gatillamiento del ERE. El objetivo de este estudio fue determinar si el EOX inducido por la administración de T_3 se asocia al ERE mediante la evaluación de la vía de señalización de PERK en hígado de rata. Los animales fueron tratados con T_3 (0,1 mg/Kg de peso) por 3 días consecutivos. Se determinó expresión de PERK y eIF2 α fosforiladas y no fosforiladas

y niveles de GSH (método de Tietze). La administración de T_3 produjo un incremento estadísticamente significativo en los niveles de POx y 8-isoprostanos hepáticos ($p < 0,05$), la disminución en los niveles de GSH ($p < 0,05$) hepáticos, sin cambios significativos en los niveles séricos de GOT, en animales tratados en relación a los controles. Se determinó el efecto sobre la relación PERK fosforilado/PERK no fosforilado observándose un aumento en esta relación en los animales tratados con T_3 en comparación a los controles ($p < 0,05$), junto con un aumento en la relación eIF2 α fosforilado/eIF2 α no fosforilado. Se concluye que el EOX inducido por la hormona tiroidea se asocia al ERE, evidenciado por la activación de la vía de señalización de PERK.

Agradecimientos: FONDECYT 1120034

Patrocinante: Videla, L.A.

095. EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON OMEGA 3 EN EL ESTADO REDOX DE TESTÍCULOS DE RATA SOMETIDOS A HIPOXIA HIPOBÁRICA INTERMITENTE (Effect of supplementation with omega 3 in redox status of rat testis subjected to intermittent hypobaric hypoxia).

Farías, J.G.¹, Short, E.¹, Zepeda, A.¹, Figueroa, C.¹, Llanquino, V.¹, Castillo, R.²

¹Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile; ²Pathophysiology Program, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile. (jorge.farias@ufrontera.cl).

La hipoxia hipobárica intermitente (IHH) induce cambios en el estado redox a nivel testicular, los cuales se presentarían en poblaciones expuestas a grandes alturas (>2.500 m snm.), como los mineros. Los omega 3 podrían ser eficaces para contrarrestar estas modificaciones oxidativas debido a sus propiedades antioxidantes. El objetivo fue demostrar que la suplementación con omega 3 atenúa el daño oxidativo en el testículo de rata sometidas a IHH. Los animales se dividieron en: normoxia normobárica (~ 750 tor; pO₂ 156 mmHg; Nx, n = 7); Nx + omega 3 (n = 7), suplementados con omega 3 (DHA: EPA = 3:1; 0,3 g/kg/día); hipoxia hipóxica (~ 428 tor; pO₂ 90 mmHg; Hx, n = 7) y, Hx + omega 3 (n = 7). La hipoxia fue inducida en 4 ciclos (96 h de HH; 96 h de Nx normobárica) por 32 días. La capacidad antioxidante (FRAP) y los niveles de malondialdehído (MDA) en plasma; la relación glutatión reducido (GSH)/oxidado (GSSG), los niveles de TBARS y la actividad de las enzimas antioxidantes en testis, se evaluaron al final del protocolo. Se determinaron los niveles de sirtuin 1 y HIF-1 α . La IHH incrementa TBARS y HIF-1 α , y reduce los niveles de FRAP en el plasma, las actividades de enzimas antioxidantes y de sirtuin 1 en testis. Omega 3 atenúa estos efectos redox, además aumentando los niveles de sirtuin 1 y reduciendo la expresión de HIF-1 α . IHH induce estrés oxidativo plasma y en testis de rata, efectos atenuados por omega 3. Según esto, sirtuin 1 actuaría como un potenciador antioxidante.

Agradecimientos: FAPESP 2012/50210-9; FONDECYT 1080482

096. RESPUESTA ANTIOXIDANTE HEPÁTICA EN RATONES MACHOS ADULTOS CON HÍGADO GRASO EXPERIMENTAL (Antioxidant hepatic response in adults male mice with experimental fatty liver).

López-Ortega, A.A.¹; Flores, C.A.¹; Aranguren, A.J.¹; Plaza, M.A.²; Murillo, M.D.²

¹Unidad Investigación Cs Funcionales Dr. H. Moussatché, Decanato de Ciencias Veterinarias, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela, ²Departamento Farmacología y Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. (alopez@ucla.edu.ve).

El estrés oxidativo (EO) ha sido propuesto como promotor importante del hígado graso (HG) no alcohólico, patología de relevante importancia tanto en medicina humana como veterinaria, debido al deterioro del hígado y de sus funciones. El organismo posee sistemas antioxidantes que aminoran los efectos dañinos del EO. El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta antioxidante hepática en el HG experimental inducido por DL-etiionina (7,5 mg/20 g peso corporal) seguido de ayuno/48 horas. Se utilizaron 20 ratones machos NMRI adultos provenientes del Bioterio Central-UCLA. El HG se evaluó mediante histología y cuantificación de los triglicéridos hepáticos. La actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y la concentración de glutatión (GSH), se determinaron en el hígado por kits comerciales. Los resultados son la media±ES; la significación estadística se obtuvo mediante la prueba "t" de Student. La inducción de HG causó disminución de la SOD citosólica (28,67±0,65 a 11,06±1,52 U/mg proteínas; P<0,001) y de la GPx (27,98±2,67 a 9,54±2,60 nmoles/min/mg proteínas; P<0,001), como también del GSH (34,0±2,16 a 23,63±1,63 μmoles/L/mg proteínas; P<0,019). La histopatología hepática mostró esteatosis macrovesicular, concordante con la elevada concentración de triglicéridos hepáticos (0,696±0,052 a 2,263±0,029 mg TG/mg proteínas; P<0,001). Se concluye que en el HG inducido por etiionina, hay una disminución de la actividad hepática de la SOD, de la GPx y de la concentración del GSH, hallazgo que se explicaría por su función neutralizadora de la acción dañina del EO hepático observado anteriormente en nuestro laboratorio, en este modelo experimental.

Agradecimientos: Financiado por Consejo de Investigación Científica, Humanística y Tecnológica (CDCHT), Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), Barquisimeto, Venezuela.

Patrocinante: Fernández, V.

097. EFECTO DEL ÁCIDO LIPOICO EN LA TOXICIDAD INDUCIDA POR NITROFURANTOÍNA SOBRE CÉLULAS H1975 (Effect of lipoic acid in nitrofurantoin-induced toxicity on H1975 cells).

Olguín, O.¹; Faúndez, M.¹

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología Molecular, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile, (oaolguin@uc.cl).

La nitrofurantoina es un antibacteriano que sufre metabolismo monoeléctrico catalizado por la NADPH:citocromo P450 reductasa (CPR). Durante este metabolismo, vía reciclaje redox, se liberan una serie de radicales libres y especies reactivas que comprometen el cumplimiento de la terapia farmacológica. Así, la inhibición de la CPR, se puede traducir en una menor producción de especies reactivas y una menor incidencia de efectos secundarios asociados a la terapia con nitrofurantoina. El ácido alfa lipoico es un compuesto endógeno que ha demostrado ser un inhibidor de esta enzima. Dado que el efecto secundario más relevante asociado al uso terapéutico de la nitrofurantoina se manifiesta a nivel pulmonar, utilizamos células de cáncer de pulmón (H1975) y las expusimos a altas dosis de nitrofurantoina en presencia de ácido lipoico. Nuestros resultados muestran que el valor de IC₅₀ presentado por nitrofurantoina en el modelo celular propuesto (IC₅₀ 60μM) aumenta en presencia de ácido lipoico a concentraciones 10μM y 100μM (IC₅₀ 100μM e IC₅₀ 140μM respectivamente). En el mismo sentido demostramos que, utilizando

microsomas de hígado de rata, el ácido lipoico inhibió la generación de especies reactivas del oxígeno, gatillada por la reducción de nitrofurantoina catalizada por CPR a concentraciones μM mientras que, de acuerdo con otros autores, sólo inhibió la reducción de citocromo c a concentraciones mM. Estos datos pueden ayudar a comprender de mejor manera el mecanismo inhibitorio del ácido lipoico sobre la CPR y su relación con la generación de especies reactivas durante el metabolismo de nitroarilderivados.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT de iniciación en investigación N°11121358 a M.F.

Patrocinante: Faúndez, M.

098. EFECTOS DE ÁCIDOS HÚMICOS DE SUELOS VOLCÁNICOS DE CHILE SOBRE LA TOXICIDAD INDUCIDA POR COBRE SOBRE LAS GLUTATIÓN S-TRANSFERASAS CITOSÓLICAS DE HÍGADO DE RATA (Effect of humic acid from Chilean volcanic soils in copper toxicity induced on cytosolic glutathione S-transferases from rat liver).

Troncoso, M.¹, Faúndez, M.², Antilén, M.¹

¹Laboratorio de Química de Suelos, Departamento de Química Inorgánica. ²Laboratorio de Farmacología y Toxicología Molecular. Departamento de Farmacia. Facultad de Química. Pontificia Universidad Católica de Chile. (mmtronc1@uc.cl).

Los ácidos húmicos (AH) son componentes fundamentales en el comportamiento de la materia orgánica presente en los suelos debido principalmente, a sus propiedades quelantes. Esta propiedad se debe a que en su estructura presentan gran cantidad y variedad de grupos funcionales. Por otra parte, se ha reportado el efecto de distintos metales pesados sobre la actividad catalítica de las glutatión S-transferasas citosólicas, así, el cobre mediante su interacción con cisteínas y/o la generación de especies reactivas de oxígeno, ha demostrado inhibir la actividad catalítica Letelier *et al* 2006). Este trabajo estudia la interacción de Cu²⁺ con (AH) de origen volcánico y su efecto sobre la toxicidad inducida por el metal sobre este sistema enzimático. La enzima se obtuvo de la fracción citosólica de hígado de rata, y su actividad catalítica se midió mediante la conjugación de 1-Cl-2,4-dinitrobenzenceno con Glutatión. La enzima (10 μg/mL) fue expuesta a mezclas que contenían (concentración final) ácidos húmicos 1 μg/mL y distintas concentraciones de Cu²⁺, hasta 100 μM. El Cu²⁺ mostró tener un valor de IC₅₀ cercano a 18,0 μM. Todos los AH fueron capaces de desplazar el valor de IC₅₀ de Cu²⁺, hasta valores cercanos a 60,0 μM.

En particular, los AH provenientes de suelos volcánicos presentaron un mayor efecto protector comparados con los de origen no volcánico a dosis equivalente en concentración (μg/mL) al fármaco utilizado en intoxicaciones con Cu²⁺, penicilamina. Estos datos pueden sentar las bases para el desarrollo de nuevos agentes útiles en el tratamiento de sistemas biológicos expuestos a Cu²⁺.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento otorgado por Proyecto Fondecyt 1130094 a M.A. y Proyecto Fondecyt de iniciación en investigación N°11121358 a M.F.

Patrocinante: Faúndez, M.

099. KISSPETINA BLOQUEA EL AUMENTO DEL RECEPTOR DE FSH INDUCIDO POR UNA ESTIMULACIÓN β -ADRENÉRGICA EN EL OVARIO DE RATA DURANTE EL PERIODO DE SUBFERTILIDAD (Kisspeptin block the increase of the FSH receptor induced by a β -adrenergic stimulation in the rat ovary during the subfertility period).

Fernandois, D.; Lara, H.E.; Paredes, A.H.

Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (dfernand@ciq.uchile.cl)

En la actualidad las parejas han decidido aplazar la maternidad acercándose a la ventana de subfertilidad de la mujer (sobre los 32 años), lo que ha provocado una disminución de la tasa de fertilidad y el aumento los programas de fertilización *in vitro*. Debido a esto, comprender el mecanismo del desarrollo folicular durante este periodo es fundamental. Al respecto, se ha descrito un aumento en la pérdida de la reserva folicular y un aumento del tono adrenérgico ovárico durante el periodo de subfertilidad. Este efecto también es observado en nuestro modelo experimental de ratas durante su periodo de senescencia reproductiva (8 a 12 meses de edad). En este estudio hemos determinado que tanto la expresión del gen *kiss1* como los niveles de kisspeptina ovárica aumentan durante el envejecimiento, con un patrón similar al incremento del reclutamiento folicular que ocurre durante este periodo. Para evaluar la acción de este péptido sobre el reclutamiento folicular se realizaron incubaciones de ovarios *in vitro* con isoproterenol, kisspeptina y el péptido 234 (antagonista del receptor de kisspeptina) y se cuantificó el ARNm del receptor de FSH como marcador del reclutamiento folicular por qPCR. Los resultados muestran que el efecto de isoproterenol es revertido en presencia de kisspeptina, y estimulado en presencia del péptido 234, pero ni kisspeptina ni el péptido 234 son capaces de ejercer un efecto por sí solos. Esto sugiere que kisspeptina antagoniza el efecto de isoproterenol sobre el aumento del receptor de FSH, sólo en presencia del estímulo adrenérgico.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1120147

100. USO DE ADENOVIRUS PARA LA EXPRESIÓN DEL HETERODÍMERO G β Y RECOMBINANTE (Use of adenovirus for the recombinant G β Y heterodimer expression).

González, D.; Nova, D.; San Martín, L.; Hernández, T.; Fuentealba, J.; Guzmán, L.

Laboratorio de Neurobiología Molecular, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile (danigonzalet@udec.cl)

El adenovirus es uno de los vectores virales más utilizados para la transducción de diferentes tipos celulares. El extenso uso de este vector viral es debido a su alta eficiencia de transferencia nuclear, amplio tropismo, baja patogenicidad y además puede expresar proteínas con modificaciones postraduccionales y conformación estructural correcta en células de mamífero. Estudios previos han demostrado que el dímero G β Y participa en varias vías de señalización, interaccionado con proteínas como canales iónicos, fosfolipasas, kinasas y receptores postsinápticos, entre otras. En nuestro laboratorio, se estudian algunas vías de señalización mediadas por el dímero G β Y, a través de ensayos electrofisiológicos y de interacción. Los ensayos de interacción requieren de una gran cantidad del heterodímero, generando un alto costo para la investigación. Es por esto que en este trabajo se utilizó el sistema de vector adenoviral como un nuevo modelo para la expresión del dímero G β Y. Se generaron vectores adenovirales para G β y G γ y se expresaron en células HEK293, lo cual se confirmó mediante fluorescencia. Posteriormente, se amplificaron los viriones en la misma línea celular para obtener un alto título viral y así co-infectar células SiHa para la expresión del heterodímero. Finalmente, las proteínas se purificaron mediante cromatografía de afinidad y fueron identificadas por la técnica de *Western Blot*.

La obtención del dímero G β Y se identificó satisfactoriamente, con un alto rendimiento de expresión y se espera un funcionamiento adecuado para los posteriores ensayos de interacción.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto Fondecyt 1131004 y Proyecto IDeA CA12110280.

Patrocinante: Fuentealba, J.

101. NIVELES DE HORMONAS SEXUALES Y EXPRESIÓN DE AROMATASA EN RATAS HIJAS DE MADRES SOMETIDAS A UNA DIETA ALTA EN GRASAS PREVIO Y DURANTE LA GESTACIÓN (Sexual hormones and aromatase expression in the offspring of rat submitted to a high fat diet previous and during pregnancy).

Ramírez, L.A. Ambrosetti, V., Guerra M, Reyes, A., Álvarez, D., Olguín, S., Cerda, T., Cruz, G.

Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas. CNPC. Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. (amanda.ramirez.a@gmail.com).

El sobrepeso y obesidad de la madre durante la gestación son condiciones cuya prevalencia se encuentra en aumento en nuestro país. La obesidad materna tiene un impacto inmediato sobre el desarrollo normal del embarazo, aumentando la incidencia de diabetes gestacional, preclamsia, y alteraciones en el parto. Sin embargo, el impacto puede trascender a la generación posterior en donde se ha observado diversas patologías en modelos experimentales. Nuestro objetivo en este trabajo fue evaluar los niveles de estradiol y testosterona plasmáticos y los niveles de aromatasa ovárica en ratas adultas hijas de madres alimentadas con una dieta alta en grasa (HF) previo y durante la gestación. Los análisis se realizaron a los 60 días de vida en la descendencia. Estradiol y testosterona plasmáticos se determinaron por ELISA y los niveles de ARNm de aromatasa por PCR en tiempo real. Estradiol se encontraba aumentado en ratas hijas de madres HF y testosterona se encontraba disminuida. No encontramos cambios en los niveles de aromatasa en ovario. Podemos concluir que la obesidad materna produce en las hijas un incremento de los niveles de estradiol y una disminución de los niveles de testosterona en el plasma. Sin embargo, estos resultados no son producto de una mayor aromatización de testosterona a estradiol a nivel ovárico, sino que podrían deberse a una mayor aromatización a nivel de tejido graso. Estudios adicionales son necesarios para demostrar esta hipótesis.

Agradecimientos: Financiado por FONDECYT 11130707 (GC)

102. EXPRESIÓN DE CYP3A Y NIVELES PLASMÁTICOS DE ESTRADIOL EN RATAS HIJAS DE MADRES SOMETIDAS A UNA DIETA ALTA EN GRASAS PREVIO Y DURANTE LA GESTACIÓN (CYP3A expression and estradiol plasmatic levels in the offspring off rats fed with a high fat diet previous and during pregnancy).

Reyes, A.¹; Ramírez, L.A.¹; Ambrosetti, V.¹; Guerra, M.¹; Álvarez, D.¹; Olguín, S.¹; Cerda, T.¹; Riquelme, R.²; Sotomayor-Zárate, R.²; Cruz, G.¹

¹Laboratorio de Alteraciones Reproductivas y Metabólicas, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. ²Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso (aldoreyes@hotmail.es).

La obesidad materna durante la gestación se ha relacionado con alteraciones a corto y largo plazo pudiendo afectar también a la descendencia. En nuestro laboratorio encontramos que la descendencia de ratas obesas durante la gestación presenta quistes ováricos, menos folículos antrales y un incremento en los niveles plasmáticos de estradiol. Algunos estudios han relacionado la exposición a una dieta alta en grasa (HFD) durante la gestación con una menor expresión y actividad de la enzima hepática citocromo P4503A (CYP3A) en ratones, la cual interviene en el metabolismo de estradiol. Planteamos que una posible disminución de la expresión de *cyp3a* podría explicar los niveles elevados de estradiol en ratas hijas de madres sometidas a HFD. Nuestro objetivo fue determinar la expresión de CYP3a en hígado y los niveles plasmáticos de estradiol en ratas hijas de madres alimentadas con HFD previo y durante la gestación. Los niveles de estradiol fueron determinados por ELISA competitivo y los niveles de ARNm de *cyp3a* por PCR en tiempo real. Encontramos que estradiol se encontraba aumentado en ratas adultas y con una tendencia al aumento en ratas prepúberes; sin embargo los niveles de ARNm *cyp3a* no cambiaron respecto a ratas controles. En conclusión, una baja expresión de CYP3A no es la causa del aumento de estradiol plasmático en ratas hijas de madres obesas, abriendo la posibilidad de buscar otros mecanismos alternativos como por ejemplo un incremento en la síntesis de la hormona o una disminución en la metabolización a través de otra vía.

Agradecimientos: Financiamiento otorgado por proyecto Fondecyt de iniciación en investigación N° 11130707 (GC).

Patrocinante: Cruz, G.

103. CHARACTERIZATION OF THE DEVELOPMENTAL TOXICITY OF MISOPROSTOL USING CULTURE ASSAY POST-IMPLANTATION EMBRYOS (Caracterización de la embriotoxicidad de misoprostol utilizando el ensayo de cultivo de embriones post-implantación).

Tapia, A.^{1,3}; Cavieres, F.^{1,2}

¹Laboratorio de Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso ²Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables. ³Programme of Molecular & Clinical Pharmacology, ICBM, Medical Faculty, University of Chile, Santiago, Chile (andrei_tapia@hotmail.com).

Prostaglandins of the E series play an important role during development. In Chile, misoprostol a synthetic analog of prostaglandin E₁ is approved for the treatment of peptic ulcers induced by non-steroidal anti-inflammatory drug. Due to its uterotonic properties it is also indicated for therapeutic abortion. Misoprostol can also interfere with normal development, since as a PG analog, it interacts with EP prostanoid receptors, which are highly expressed during organogenesis. In this investigation, a post-implantation rodent embryo culture was used to evaluate the embryotoxicity of misoprostol and teratogenic effects. Embryos were cultured in the presence of 200, 2.000 and 20.000 pg/mL misoprostol as well as PGE₂ and AH6809, an EP₁ and EP₂ receptor antagonist. After culture, embryos were evaluated for functionality, growth and morphology. Misoprostol induced a concentration-dependent embryotoxicity with a decrease in viability and functionality, and a noticeable poor viteline sac circulation. A series of morphological alterations were also observed, including lack of fusion of anterior and posterior neural tube.

It is proposed that misoprostol is capable of inducing both a developmental delay and disruption, which is mediated by activation of the EP₃ receptor.

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

104. LA EXPOSICION NEONATAL A TESTOSTERONA Y SU AROMATIZACION A ESTRADIOL AFECTAN EL DESARROLLO FOLICULAR TEMPRANO DE OVARIO DE RATA (The neonatal exposure to testosterone and its aromatization to estradiol affects the early follicular development in the rat ovary).

Tiszavari, M.X.; Lara, H.E.

Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. (michellelitzavari@gmail.com).

La estrogenización neonatal de ratas hembras con valerato de estradiol (EV) altera el desarrollo folicular ovárico y la función reproductiva del animal. Disminuyen los folículos preantrales, antrales y cuerpos lúteos, además aparecen quistes ováricos, resultando en infertilidad. Estos cambios también se observan en ratas tratadas neonatalmente con propionato de testosterona (TP) (andrógeno aromatizable a estradiol), surgiendo la posibilidad que testosterona pueda ser convertida en estradiol para realizar su efecto. El objetivo de este trabajo fue determinar si la aromatización de testosterona a estradiol provoca cambios morfológicos tempranos capaces de dar cuenta del daño folicular observado en la adultez. Para esto se realizó un estudio morfológico en ovarios de rata de 4 días, los que fueron previamente expuestos a EV, TP y dihidrotestosterona (DHT, andrógeno no-aromatizable), a las 12 horas de edad por medio de una inyección única subcutánea. En todos los tratamientos se observó una disminución en el número total de folículos secundarios, pero sólo en TP y EV se evidenció una disminución en el número de folículos primarios. Estos cambios demuestran que la progresión de folículo primario a secundario es un efecto tanto estrogénico como androgénico, mientras que la progresión de folículos primordiales a primarios (lo que a su vez afecta el reclutamiento folicular) es un efecto netamente estrogénico. En conclusión, estos resultados demuestran que la exposición neonatal a andrógenos y estrógenos afectan el inicio del desarrollo folicular, pero la exposición estrogénica es más dañina al perpetuarse en el tiempo alterando la función reproductiva en la adultez del animal.

Agradecimientos: Financiado por Proyecto FONDECYT 1090036 y Conicyt-PIA-DFG10

Patrocinante: Lara, H.E.

105. TRATAMIENTO COMBINADO DE SINIVASTATINA Y EZETIMIBA EN DOSIS BAJA REDUCE CITOQUINAS INFLAMATORIAS SIN MODIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE PCRus EN PACIENTES HIPERCOLESTEROLÉMICOS (Low dose simvastatin plus ezetimibe treatment reduce inflammatory cytokines without modification of hsPCR levels in hypercholesterolemic patients).

Cerda, A.^{1,2}; Fajardo, C.M.²; Guimaraes, E.²; Dorea, E.L.³; Gosokuma, M.C.³; Pinto, G.A.³; Salazar, L.A.¹; Hirata, M.H.²; Hirata, R.D.C.².

¹Centro de Biología Molecular y Farmacogenética, CEGIN/BIOREN, Universidad de La Frontera, Chile. ²Laboratório de Biología Molecular aplicada ao Diagnóstico, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil. ³Hospital Universitário, Universidade de São Paulo, Brasil. (alvarocerda@usp.br; tmalvarocerda@gmail.com)

La dislipidemia es un factor importante en el proceso aterogénico y los niveles de colesterol han sido asociados con el proceso inflamatorio a través de la modulación de citoquinas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de inhibidores de la síntesis (sinvastatina) y de la absorción (ezetimiba) del colesterol sobre marcadores inflamatorios en pacientes hipercolesterolémicos. Fueron seleccionados 39 pacientes hipercolesterolémicos, sometidos inicialmente a un periodo de washout (4 sem). Posteriormente fueron tratados con ezetimiba (10 mg/día/4 sem), sinvastatina (10 mg/día/4 sem) y una combinación sinvastatina/ezetimiba (10 mg + 10 mg/día/4 sem). Después de cada fase fueron obtenidas muestras de sangre venosa para determinación de parámetros bioquímicos, niveles plasmáticos de marcadores inflamatorios y separación de células mononucleares de sangre periférica (CMSP). Las formas solubles de ICAM1, MMP9, IL1β, TNF-α y MCP-1 fueron evaluadas usando tecnología milliplex. RNA fue extraído de CMSP y la expresión de RNAm medida por qPCR. La sinvastatina causa una mayor reducción de colesterol total, LDL-c y apoB que la ezetimiba y la combinación sinvastatina/ezetimiba fue más eficiente que ambas terapias en la reducción de estos parámetros (p<0,05). La concentración de PCRus y la expresión génica y proteica de MMP9 no fueron modificadas por los tratamientos. La expresión de RNAm de ICAM1 fue reducida en respuesta al tratamiento combinado, sin embargo no hubo reducción su concentración plasmática. La expresión génica en CMSP y niveles plasmáticos de IL1β, TNF-α y MCP-1 fueron reducidos por la asociación sinvastatina/ezetimiba (p<0,05). En conclusión, la asociación de ezetimiba y sinvastatina usando una dosis baja de cada medicamento otorga mayores beneficios al modular el proceso inflamatorio en pacientes hipercolesterolémicos.

Agradecimientos: Financiado por la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), proceso n°2010/15353-8.

Patrocinante: Salazar, L.A.

106. ENSAYO CLINICO CRUZADO Y ALEATORIZADO DE BIOEQUIVALENCIA DE DOS FORMULACIONES DE HIDROCLOROTIAZIDA DE 50 MG, TRAS SU ADMINISTRACIÓN EN DOSIS ÚNICA A VOLUNTARIOS SANOS (Bioequivalence study of two commercial hydrochlorothiazide 50 mg formulations in healthy human volunteers).

Fuentealba, J.¹; Fierro, H.¹; Rojas, R.¹; Yáñez, S.²; Acuña, P.²; Rosales, K.²; Yevenes, P.³; Yzoard, M.³; Tapia, C.³; Rivas, V.³; Caba, A.¹; Copaja, M.²

¹Centro de Investigaciones Avanzadas en Biomedicina, Fac. de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción, Chile. ²Departamento Biofarmacia, Agriquem América S.A. ³Hospital Regional Guillermo Grant Benavente, Concepción, Chile (jorgefuentealba@udec.cl).

El objetivo de este estudio clínico fue realizar un análisis comparativo de la biodisponibilidad de dos formulaciones de Hidroclorotiazida 50 mg, diurético ampliamente usado en terapia antihipertensiva, por medio de la utilización de una metodología analítica validada utilizando HPLC-MS/MS.

Para la realización de este estudio, previamente autorizado por el CE del SS Concepción y el ISP, se seleccionaron y reclutaron 39 voluntarios sanos, a través de un diseño abierto, en dos periodos, aleatorizado y cruzado, con un intervalo de lavado de 7 días. Las concentraciones plasmáticas (Cp) se determinaron por medio de un muestreo de 48 hrs. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos fueron: área bajo la curva (AUC) a tiempo t e infinito, C_{máx} y t_{máx}. El análisis farmacocinético y estadístico se realizó mediante winnonlin V6.3. Los resultados obtenidos para las formulaciones de estudio (E) y de referencia (R) fueron los siguientes, razón media E/R: C_{máx}: 95.37%; AUC en el intervalo 0-t (AUC_{0-t}): 93.59%; AUC en el intervalo 0-infinito (AUC_{0-∞}): 96.34%, y t_{máx}: 105.98%. Parámetros farmacocinéticos para E y R, respectivamente son: C_{máx} (ng/mL): 267.81±1.05 y 280.81±1.05; AUC_{0-t} (h*ng/mL): 1563.08±1.05 y 1669.99±1.05, AUC_{0-∞}(h*ng/mL): 1667.10±1.05 y 1730.39±1.05; t_{máx}(h): 2.19±1.06 y 2.07±1.06. Ambas formulaciones no muestran diferencias estadísticamente significativas en los parámetros farmacocinéticos obtenidos, y se ubican en el rango de similitud de entre 80 y 125%, por tanto, es posible concluir que ambas formulaciones (E y R) pueden considerarse bioequivalentes e intercambiables.

Agradecimientos: Proyecto Centro de Investigaciones Avanzadas en Biomedicina-UdeC CIAB2013-01-HCT-V6

Patrocinante: Fuentealba, J.

107. ASOCIACIÓN DE COMPONENTES INFLAMATORIOS MEDIADOS POR TLR-4 CON ÁCIDOS GRASOS LIBRES Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN NIÑOS PORTADORES DE OBESIDAD O SOBREPESO (Association of inflammatory components mediated by TLR-4 with free fatty acids and insulin resistance in children with obesity or overweight).

Orias, J.¹; Sáez, K.²; Asenjo, S.³; Bustos, P.¹

¹Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad Farmacia, ²Departamento de Estadística, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, ³Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción (jorrias@udec.cl)

La obesidad conlleva una elevación de ácidos grasos libres (AGLs) que activan componentes inflamatorios vía TLR-4. En este trabajo se evaluaron componentes inflamatorios mediados por TLR-4, AGLs y resistencia a la insulina (RI) en 82 niños (11,5±1,6 años), 37 sobrepesos y 45 obesos. Se midió circunferencia de cintura (CC) y composición corporal, proteína-C-reactiva ultrasensible (PCRus), IL-6 y AGLs por HPLC. En monocitos se determinó el % de expresión de TLR-4 por citometría de flujo, y en células mononucleares, la expresión génica de TLR-4, IL-6, TNF-α y NF-κB por RT-qPCR. La PCRus fue mayor en obesos que sobrepesos (1,7±1,6 vs 0,7±1,0mg/L, p<0,01). La población total presentó 23,3±17,7pg/mL de IL-6, valor superior al normal. Los niveles de AGLs fueron mayores en obesos que en sobrepesos (p<0,01) y se correlacionaron con IMC-percentil, CC y % de grasa (p<0,001). La expresión de TLR-4 en monocitos fue 80,1±5,1%, se correlacionó positivamente con la glicemia e índice de RI (HOMA-IR) (p<0,05). La expresión génica de TNF-α y NF-κB en obesos fue significativamente mayor que en sobrepesos (1±0,17 vs 0,58±0,23 y 1±0,10 vs 0,72±0,18, respectivamente), TLR-4 se relacionó directamente con IMC, Z-score-IMC, IMC-percentil, % de grasa y CC (p<0,05). Los genes TLR-4 e IL-6 se correlacionaron con la expresión de TLR-4 (p<0,05). El gen NF-κB se correlacionó positivamente con los genes de TLR-4, IL-6 y TNF-α (p<0,01). En conclusión, los niños obesos presentaron elevada concentración de AGLs, mayor estado inflamatorio, alta expresión de TLR-4 y mayor expresión génica de marcadores inflamatorios, que contribuyen al desarrollo de RI.

Agradecimientos: Financiado por Fundación de la Familia, Proyecto INNOVA 12.284-EM.TES.

Patrocinante: Gómez-Gaete, C.

108. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO Y PRONÓSTICO DEL INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO EN CHILE: ¿DIFIERE SEGÚN LA FUNCIÓN RENAL? (Pharmacological treatment and myocardial infarction outcomes: Is there any difference according to renal function?).

Prieto-Rayo, J.C.¹; Silva P.¹; Nazzal, C.²; Prieto, J.C.¹

A nombre del grupo GEMI. ¹Programa Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina Universidad de Chile. ²Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina Universidad de Chile (icprietorayo@gmail.com)

Antecedentes: El tratamiento del infarto agudo al miocardio (IAM) está sustentado en ensayos clínicos controlados efectuados en las últimas décadas. Por otra parte, la insuficiencia renal es un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular que empeora el pronóstico en pacientes con infarto agudo al miocardio. Objetivos: comparar el tratamiento farmacológico y la mortalidad intrahospitalaria en pacientes con y sin alteración de la función renal, ingresados con diagnóstico de IAM en una red de hospitales chilenos (GEMI). Método: se analizan 5707 pacientes registrados entre los años 2007 y 2012 en la red GEMI, con diagnóstico de IAM y que contaban con creatininemia (Cr) de ingreso. Se constituyeron dos grupos: Cr < 1,4 mg/dl (G1) y Cr ≥ 1,4 mg/dl (G2). Resultado: G1 tuvo edad promedio de 61 ± 13, con 73% hombres, y G2 edad promedio de 70 ± 12 años, con 72% de hombres.

Tratamiento	G1 (%) n=4833	G2 (%) n=874	p
Aspirina	96	93	<0,001
β-bloqueadores	73	59	<0,001
IECA	62	48	<0,001
Estatinas	94	90	<0,001
Trombolítico*	36	32	NS
Angioplastia*	38	29	<0,001

*Sólo pacientes con IAM y supradesnivel ST

La mortalidad intrahospitalaria en G1 fue de 3,4%, mientras que en G2 fue de 17% (p<0,001). Conclusión: los pacientes con insuficiencia renal recibieron proporcionalmente menos terapia farmacológica aceptada para el tratamiento del IAM, tanto para fármacos que podrían requerir un ajuste (IECA) como para aquellos que no lo necesitan (estatinas). La Cr elevada determina un aumento significativo de la mortalidad.

Patrocinante: Prieto, J.C.

109. ATORVASTATINA MODULA LA EXPRESIÓN DE microRNAs EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE INDIVIDUOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS (Atorvastatin downregulated the microRNA expression profile in peripheral mononuclear cells from subjects with hypercholesterolemia).

Salazar, L.A.¹; Zambrano, T.¹; Hirata, R.D.C.²; Hirata, M.²; Cerda, A.²

¹Centro de Biología Molecular & Farmacogenética, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile; ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil (luis.salazar@ufrontera.cl)

Los niveles elevados de colesterol LDL están asociados al desarrollo de enfermedad cardiovascular y eventos coronarios agudos. Durante años, la

terapia de elección para disminuir el colesterol plasmático y el riesgo cardiovascular ha sido el uso de inhibidores de la enzima HMG-CoA reductasa o estatinas, optimizando el tratamiento y la prevención de la enfermedad coronaria. A pesar de ser un medicamento tolerable y seguro, uno de los aspectos desfavorables de esta terapia ha sido la considerable variabilidad en la respuesta entre los pacientes, determinada en gran medida por factores genéticos. Sin embargo, escasa evidencia existe sobre la regulación epigenética. El objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión diferencial de microRNAs en células mononucleares periféricas de 40 sujetos hipercolesterolémicos, antes y después, de ser sometidos a tratamiento de 4 semanas de duración con atorvastatina (10 mg/día, n=20) y simvastatina (10 mg/día, n=20). El resultado de ambas terapias fue evaluado utilizando una plataforma de PCR array, incluyendo 84 microRNAs potencialmente ligados a la homeostasis del colesterol. De estos microRNAs, sólo seis (miR-29a-3p, miR-29b-3p, miR-300, miR-33a-5p, miR-33b-5p y miR-454-3p) sufrieron una disminución en su expresión después del tratamiento con atorvastatina (P<0.05). Por otro lado, en el grupo tratado con simvastatina no se registraron diferencias significativas. En resumen, nuestros resultados muestran, por primera vez a nivel mundial, que atorvastatina es capaz de modular *in vivo* la expresión de microRNAs, los cuales pueden constituirse en nuevos biomarcadores para monitorizar la respuesta terapéutica.

Agradecimientos: Beca CONICYT (N° 21090417); FAPESP (N° 2011/21967-1) & FONDECYT (N° 1130675).

110. POLIMORFISMOS GENÉTICOS DEL GEN MDR1 Y RIESGO DE RECHAZO DE TRASPLANTE RENAL (Genetic polymorphisms in MDR1 gene and renal transplant rejection risk).

Contreras, S.¹; Rodríguez, M.S.²; Llull, G.³; Ramírez, A.³; Martínez J.¹; Quiñones, L.¹

¹Universidad de Chile, Laboratorio de Carcinogenesis Química y Farmacogenética, Programa de Farmacología Clínica y Molecular ICBM, Facultad de Medicina, Santiago, Chile. ²Hospital San Juan de Dios, Unidad de Nefrología y Trasplante, Santiago, Chile. ³Hospital San Juan de Dios, Laboratorio Clínico. (scontreras@farmacogenetica.cl)

Ciclosporina (CsA) es un fármaco inmunosupresor ampliamente utilizado para evitar el rechazo de órganos en pacientes trasplantados. Este fármaco se caracteriza por una alta variabilidad intra e interindividual y un estrecho margen terapéutico, por lo que es altamente recomendable la monitorización de sus niveles en sangre para así evitar el rechazo del órgano o nefrotoxicidad. CsA es metabolizado por enzimas del sistema citocromo P450 y además es sustrato de glicoproteína-P (P-gp) una bomba de eflujo que expulsa CsA de las células. Diversos estudios han descrito que el gen que codifica para P-gp, MDR1, posee polimorfismos genéticos que estarían afectando la función de esta proteína y por lo tanto alterando la absorción de CsA y consecuentemente el riesgo de nefrotoxicidad y/o rechazo. Por lo tanto, 70 pacientes (39 hombres y 31 mujeres, edad 43 ±13 años) trasplantados renales fueron genotipificados para los polimorfismos MDR1 3435 C>T y MDR1 2677 G>T/A mediante PCR-RFLP. Los resultados obtenidos fueron asociados a episodios de rechazo presentados durante el primer año post trasplante. Se observó que los pacientes que presentaron el genotipo homocigoto mutado para MDR1 presentan mayor riesgo de rechazo que aquellos con genotipos homocigoto silvestre y heterocigoto (OR: 4,4 p=0,0149 para MDR1 3435 y OR: 6,4 p=0,0075 para MDR1 2677). De esta forma, se concluye que el genotipo homocigoto mutado de MDR1 corresponde a un factor de riesgo de rechazo de órganos en pacientes trasplantados renales.

Patrocinante: Quiñones, L.

111. POLIMORFISMO ERCC1 8092C/A (rs3212986) EN PACIENTES CON CÁNCER TESTICULAR: IMPLICANCIAS EN LOS EFECTOS ADVERSOS DE LA CISPLATINO (ERCC1 8092C/A (rs3212986) polymorphism in testicular cancer patients: implications in adverse effects of cisplatin).

Escalante, P.¹; Miranda, S.²; Contreras, S.¹; Roco, A.^{1,3}; Cerda, B.⁴; Acevedo, C.^{1,5}; Cáceres, D.^{1,6}; Varela, N.^{1,7}; Peña, K.⁸; Quiñones, L.¹

¹Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF), Programa de Farmacología Clínica y Molecular ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Escuela Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, ³Servicio de Salud Metropolitano Occidente, ⁴Instituto Nacional del Cáncer (INC), ⁵Hospital Clínico Universidad de Chile (HCUCH), ⁶Escuela de salud Pública, ⁷Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ⁸Hospital San Juan de Dios. (pescalante@farmacogenetica.cl).

El cáncer de testículo afecta principalmente a hombres entre 15 y 30 años y representa un bajo porcentaje entre las neoplasias en el hombre a nivel mundial. En Chile 7,2 de cada 100.000 hombres padece cáncer testicular. El tratamiento para el cáncer de testículos incluye cirugía, radioterapia y quimioterapia. En la quimioterapia se incluyen medicamentos como Cisplatino, Etopósido, Bleomicina. Cisplatino puede generar efectos adversos específicos, además de los efectos secundarios generales de los antineoplásicos. Dichos efectos adversos se han asociado en gran medida al daño al DNA de células normales de este agente. Al respecto, este daño activa el mecanismo de reparación por escisión que involucra a la enzima ERCC1 para eliminar los aductos formados entre Cisplatino y el ADN evitando la muerte celular. Por lo tanto, polimorfismos genéticos en ERCC1 podrían influir en la respuesta al tratamiento con Cisplatino. De acuerdo a lo anterior, este estudio tuvo como objetivo estudiar la presencia del polimorfismo 8092 C/A del gen ERCC1, mediante PCR-RFLP, en pacientes con Cáncer Testicular, y analizar su relación con los efectos adversos que presentaron al tratamiento con Cisplatino. Los resultados obtenidos muestran que existe una relación entre la variante genética y algunos efectos adversos estudiados, tales como: leucopenia (p= 0,042), linfocitopenia (p= 0,048), trombocitopenia (p= 0,002) y neutropenia febril (p= 0,017) en estos pacientes. Estos hallazgos podrían indicar una potencial utilidad de la determinación de este polimorfismo como marcador de seguridad del medicamento.

Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1140434

112. ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN ENTRE POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y LA RESPUESTA CLÍNICA A TAMOXIFENO EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA (Study of the association between genetic polymorphisms and clinical response to Tamoxifen in Breast Cancer patients).

Miranda, C.¹; Rojas, S.^{1,2}; Lara, R.¹; Cáceres, D.^{1,3}; Torres, M.R.^{1,4}; Lee, K.^{1,5}; Quiñones, L.¹.

¹Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF), Programa de Farmacología Clínica y Molecular ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, ³Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ⁴Instituto Nacional del Cáncer (INC). ⁵Hospital Barros Luco-Trudeau (cmiranda@farmacogenetica.cl).

Tamoxifeno, antagonista selectivo del receptor de estrógeno (ER), es el tratamiento a elección para cáncer de mama ER+. Este fármaco se bioactiva por CYP3A4/3 y CYP2D6 y se inactiva por SULT1A1 y UGT2B7/15. De acuerdo a lo anterior, en el presente trabajo se determinaron las variantes polimórficas más relevantes de estas enzimas y de ER en pacientes con cáncer de mama y controles, y éstas se evaluaron como herramientas de predicción de respuesta a Tamoxifeno. Las frecuencias genotípicas obtenidas para CYP2D6*4, CYP3A4*1B, CYP3A5*3, SULT1A1*2, UGT2B7*2 y UGT2B15*2, en población general y pacientes, son similares a las encontradas en otros estudios.

Las frecuencias genotípicas de *ESR1 V364G*, en población general y pacientes, fueron 0,891 y 0,111 para el genotipo silvestre, 0,109 y 0,472 para el heterocigoto y 0,000 y 0,417 para el mutado, respectivamente. Se realizaron análisis estadísticos de asociación entre las variantes genéticas y presencia de efectos secundarios, recidivas o riesgo de desarrollar cáncer de mama. Aunque, algunos resultados no muestran diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$), se puede concluir preliminarmente que la presencia de *CYP3A4*1Bwt*, *CYP3A5*3wt*, *SULT1A1*2mut*, *UGT2B7*2wt*, *UGT2B15*2mut* y *ESR1 V364Gmut* aumentarían los efectos secundarios de Tamoxifeno y que la presencia de *CYP3A4*1Bmut* y *UGT2B15*2wt* aumentarían las recidivas. La presencia de las variantes *UGT2B15*2mut* ($p > 0,05$) y *ESR1 V364Gmut* ($p < 0,05$) aumentan significativamente el riesgo de cáncer de mama. En conclusión, se establece que el uso de ciertas variantes genéticas de las proteínas analizadas puede aportar valiosa información acerca de la susceptibilidad a cáncer de mama y respuesta al tratamiento con Tamoxifeno.

Agradecimientos: Se agradece a las pacientes del Instituto Nacional del Cáncer por su voluntad para participar en este estudio.

113. CORRELACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS CYP1A1 Y GSTM1 CON EL RIESGO DE DESARROLLAR CÁNCER TESTICULAR (correlation of polymorphism of CYP1A1 and GSTM1 with the risk of developing cancer testicular).

Varela, N.^{1,2}, Roco, A.^{1,3}, Cayún, J.P.¹, Acevedo, C.^{1,4}, Godoy, B.⁵, García, E.⁶, Agúndez, J.A.⁶, Peña, K.⁷, Cerda, B.⁸, Quiñones, L.¹

¹Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF), Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; ²Departamento de Tecnología Médica Universidad de Chile, ³Servicio de Salud Metropolitano Occidente, ⁴Hospital Clínico Universidad de Chile (HCUCH), ⁵Escuela de Tecnología Médica Universidad Santo Tomás, ⁶Universidad de Extremadura, España, ⁷Hospital San Juan de Dios, ⁸Instituto Nacional de Cáncer (INC) (nvarela@med.uchile.cl, nvarela@farmacogenetica.cl).

El cáncer de testículo es el cáncer de mayor prevalencia en hombres jóvenes entre 20 a 35 años, la mortalidad en Chile en el año 2011 corresponde a 1,2 por cien mil hombres. Polimorfismos en enzimas de biotransformación fase I y fase II han sido postulados como biomarcadores de susceptibilidad a diversos tipos de cáncer con profundas diferencias interetnia. Nuestro objetivo es correlacionar los la presencia de polimorfismos en CYP1A1 y GSTM1 con el riesgo a desarrollar Cáncer Testicular. Metodología: El DNA fue obtenido de individuos con Cáncer testicular e Hiperplasia Prostática Benigna (grupo control). El análisis genotípico de las enzimas se realizó por PCR-RFLP. Resultados: El análisis de los genotipos de *CYP1A1* muestra que la presencia del polimorfismo *2A*2A aumenta el riesgo a desarrollar Cáncer Testicular (OR=2,45; p value= 0,03). El estudio combinado de genotipos *CYP1A1/GSTM1*, muestra que la presencia del genotipo *2A*2A/*GSTM1*(-) aumenta el riesgo en 5,18 veces (p value=0,008). El hábito tabáquico en presencia del genotipo *2A*2A confiere un riesgo de 5,81 (p value= 0,006) y el hábito alcohólico junto al mismo genotipo confiere un riesgo muy elevado (OR= 45,60; p value< 0,0001). El estudio de los genotipos de *GSTM1* combinados con la exposición a tóxicos (tabaco y alcohol) demuestra que el hábito tabáquico junto al genotipo *GSTM1*(-) produce un riesgo de 2,06 (p value= 0,021) y el consumo de alcohol más genotipo *GSTM1*(-) presentan un riesgo de 9,43 (p value< 0,0001).

Agradecimientos: Financiamiento Proyecto Fondecyt 1140434.

114. THE STARTING POINT FOR STUDYING SALSOLINOL ENANTIOMERS: SEPARATION AND PURIFICATION

Berrios-Cárcamo, P. ; Rivera-Meza, M. ; Quintanilla, M.E. ; Israel, Y.; Herrera-Marschitz, M.

Program of Molecular and Clinical Pharmacology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile. (paberrios@ug.uchile.cl)

Salsolinol [(R)- and (S)-1-methyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroquinoline] is a chiral molecule synthesized *in vivo* by the condensation of dopamine and acetaldehyde derived from the metabolism of ethanol. The study of salsolinol has focused on its possible mediation of the etiology of alcoholism, given that it is a more potent motivational molecule than ethanol or acetaldehyde. Brain salsolinol is elevated in animals that consume ethanol chronically. Higher levels of (R)- than (S)-salsolinol have been detected in areas of the brain reward system, innervated by mesencephalic dopamine neurons. Nevertheless, it is not known whether one or both enantiomers are physiologically active. In this work we present a method for the separation and purification of salsolinol enantiomers. Racemic salsolinol is injected into an HPLC column packed with silica modified with β -cyclodextrin. A volatile mobile phase is used, made of AcONH_4 , triethylamine and water at pH 4. Following sample injection, fractions of the mobile are collected based on a previously determined electrochemical elution pattern, and the solvent containing the enantiomers is eliminated by lyophilization. Using this method we obtained both salsolinol enantiomers, >99% pure. This work is the starting point for investigating on the differential effects of (R)- and (S)-salsolinol as reinforcing metabolites of ethanol.

Acknowledgement: Supported by CONICYT-Chile (national PhD scholarship), and FONDECYT (1120079, 11130241, 1130012, 1110263).

Sponsor: Herrera-Marschitz, M.

115. DISEÑO, SÍNTESIS Y ESTUDIOS DE UNIÓN DE LA N-LIPOIL-3-ACETILCUMARINA A LA ENZIMA HISTONA DEACETILASA (Design, synthesis and study of the modes of unión of the N-lipoil-3-acetylcoumarin to the Histone Deacetylase Enzyme).

Pardo-Jiménez, V.^{1,2}; Díaz-Araya, G.²; Navarrete-Encina, P.A.¹

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica Avanzada, Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica. ² Laboratorio de Farmacología Molecular, Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (vivianapardo@ug.uchile.cl).

La familia de las enzimas histonas deacetilasas (HDACs), están involucradas en la expresión génica a través de la regulación de la transcripción, y sus roles en la progresión del cáncer y otras patologías han sido objeto de numerosos estudios. Los inhibidores de las HDACs (iHDACs), han demostrado tener efectos anticancerígenos, antiinflamatorios y antifibróticos. La estructura de los inhibidores se ajusta a farmacóforo común de tres zonas: una cabeza de grupo hidrofóbica, un espaciador hidrofóbico con un largo de cadena de 6 metilenos o heteroátomos y un grupo de unión al Zn^{2+} . Basado en estas características, se diseñó el derivado N-lipoil-3-acetylcumarina. Usando el núcleo cumarina como cabeza de grupo, con el espaciador lipoilo y el grupo quelante disulfuro. La selección de la cumarina y el ácido lipoico para la síntesis del iHDAC, se hizo en base a sus posibilidades de sustituciones sintéticas y múltiples actividades farmacológicas. La síntesis comprende la formación del núcleo cumarina a través de una reacción de Perkin, activación del grupo acetilo en posición 3 de la cumarina y posterior aminación. El producto final se obtuvo por formación del enlace peptídico entre el ácido lipoico y la aminocumarina. Se determinaron los posibles modos de unión del derivado cumarínico a través de metodologías de docking y dinámica molecular, utilizando como molde la estructura cristalina de la enzima HDAC8. La introducción del grupo cumarina, con grupos terminales reconocidos por su

capacidad quelante de Zn^{2+} , permitiría estudiar la influencia de estas modificaciones en la potencia inhibitoria de las HDACs.

Agradecimientos: Financiado por Beca Doctorado Nacional CONICYT N° 21140371.

Patrocinante: Díaz-Araya, G.

116. CO-EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN *Pichia pastoris* COMO CANDIDATO VACUNAL CONTRA PCV2 (Co-expression of recombinant proteins in *Pichia pastoris* as vaccine model against PCV2).

Gutiérrez, F.A.¹; Lamazares, E.¹; Villami, I.A.¹; Aylwin, C.F.¹; Cortez-San Martín, M.³; Sánchez, O.²; Toledo, J.R.¹

¹Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas; ²Departamento Farmacología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. ³Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile (fernagutierrez@udec.cl).

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2), es un virus de ADN de simple hebra, circular y cerrado, de un largo de 1,7 Kbp con 11 marcos de lectura abiertos (ORFs). El ORF2 tiene una longitud de 750 bp y codifica la principal proteína estructural de la cápside viral (proteína Cap) de 27,8 kDa. Además, Cap es la principal proteína inmunogénica del PCV2, e induce una respuesta humoral y celular. El PCV2 es el agente etiológico del síndrome de desmedro multisistémico post-destete (PMWS) en cerdos, que causa una morbilidad de hasta un 60% en los lechones que desarrollan la enfermedad clínica, debido a la inducción de inmunosupresión asociada al PCV2. Dado el alto impacto económico del PCV2 en la porcicultura a nivel mundial, existen vacunas disponibles en el mercado que controlan el PMWS. Sin embargo, estas han resultado ineficaces para detener la infección viral persistente. Por tanto, se requiere de una formulación vacunal que proteja efectivamente a los planteles porcinos. En el presente trabajo se diseñó un vector plasmidial para la co-expresión de proteínas recombinantes en la levadura metilotrófica *Pichia pastoris*. Este vector contiene la secuencia de la proteína Cap del PCV2, regulado por el promotor alcohol oxidasa (AOX1), y posee el gen de una citoquina inmunoreguladora regulado por un segundo promotor AOX1. Como resultado se obtuvieron clones de levadura *P. pastoris* que co-expresan ambas proteínas recombinantes, que fueron inmunoidentificadas con anticuerpos específicos, y que poseen un elevado potencial de aplicación para formular una vacuna veterinaria efectiva contra el PCV2.

Agradecimientos: Fondef D1111188.

Patrocinante: Toledo, J.R.

117. FUNCIÓN DEL RECEPTOR PARA LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD OXIDADA LOX-1 EN INVASIÓN TUMORAL EN CÁNCER DE PRÓSTATA
(Receptor function for oxidized low-density lipoprotein LOX-1 in tumor invasion in prostate cancer).

Fernández-Caniulén, E.; González-Chavarría, I; Gutierrez, N.; Cerro, R.P.; Sandoval, F.A.; Toledo, J.R

Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos, Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción, Chile (edelfernandez@udec.cl).

La expresión y función del receptor para LDL oxidada LOX-1 se asocia principalmente a patologías como disfunción endotelial, aterosclerosis y obesidad. En estas patologías LDLox/LOX-1 activa vías de señalización que promueven la proliferación, motilidad celular y angiogénesis. Estudios recientes han mostrado la expresión de LOX-1 en células de cáncer de próstata (CaP) y en adenocarcinomas prostáticos humanos de estadios clínicos patológicos caracterizados por la invasión local y la generación de metástasis. Sin embargo, los mecanismos por los cuales se produce una potenciación de la progresión tumoral en pacientes dislipidémicos con altos niveles de LDLox, no se han descrito. En consecuencia, se plantea como hipótesis que la activación del receptor LOX-1 por la LDLox potencia el proceso de transición epitelio mesenquimal (EMT) en modelos celulares de cáncer de próstata. En este trabajo se demostró, por Inmunocitoquímica y western blot, que LOX-1 se expresa en modelos celulares de CaP. Además, mediante el análisis de base de datos públicos se analizó la cantidad relativa de expresión de este receptor en tejido prostático normal y en adenocarcinoma prostático, encontrándose una sobre-expresión para esta última condición. Finalmente, se analizó la expresión de proteínas correspondientes a marcadores canónicos de proceso de EMT, donde demostramos que la activación de LOX-1 por su ligando potencia la transición epitelio mesenquimal, lo que sugiere que LDLox/LOX-1 favorece procesos de invasión tumoral.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT N° 1121159

Patrocinante: Toledo, J.R.

INDICE DE AUTORES

A

Abarca, B.: 85
 Abarca, J.: 60
 Abdalla, D.S.: 54
 Aburto, J.: 74
 Acevedo, C.: 98
 Acevedo, J.: 75
 Acuña, P.: 96
 Aguayo L.G.: 56, 63, 72
 Aguayo, C.: 80
 Aguayo, R.: 53, 54
 Aguilera, A.: 91
 Agúndez, J.A.: 98
 Agurto, A.: 56
 Alderete, J.: 80
 Alderete, J.B.: 78
 Aliaga, E.: 58, 63
 Álvarez, D.: 94, 95
 Alveal, N.: 46
 Ambrosetti, V.: 94, 95
 Andrade, Y.: 81, 89
 Andrés, M.E.: 62
 Antilén, M.: 93
 Antonelli, M.: 39
 Arancibia, S.: 69
 Aranda, N.: 68
 Aranguiz, M.: 67
 Aranguren, A.J.: 93
 Araya-Maturana, R.: 88, 89, 90, 91
 Arévalo, M.: 66
 Ariel, D.: 84
 Asenjo, S.: 96
 Avello, M.: 76
 Avendaño, C.: 67
 Ayala, P.: 84, 86
 Aylwin, C.F.: 99

B

Bahamondes, G.: 57
 Ballesteros, R.: 85
 Baiardi, G.: 17
 Ballesteros-Garrido, R.: 85
 Barra, K.M.: 64
 Barra, P.: 80
 Barra, R.: 54, 57
 Barrera, N.P.: 46
 Barrientos, L.: 79
 Bastidas C.Y.: 60, 64
 Beltrán, F.: 78
 Bernal, G.: 69
 Bernal-Gómez, B.M.: 59
 Berrios-Cárcamo, P.: 70, 99
 Bolívar-González, S.: 81
 Boza, P.: 81, 82
 Bravo J.A.: 58, 62, 64, 70, 86
 Brea, J.: 61
 Bregonzio, C.: 17
 Briceño, A.: 60, 61, 66, 69
 Brito, P.: 60, 61, 66, 69
 Brito, R.: 53, 54
 Budinich, E.: 89, 90
 Burgos, C.F.: 67
 Burgos, R.: 59
 Burgos, R.A.: 51, 56, 85, 89
 Burgos-Villaseca, J.: 61

Buscaglia, M.: 70
 Bustamante, D.: 57, 62, 65, 68, 69, 70
 Bustos, P.: 79, 96
 Buvinic, S.: 49

C

Caba, A.: 96
 Caceres, D.: 98
 Cáceres, R.: 51
 Cambiazo, V.: 76
 Campos-Estrada, C.: 82, 87
 Campusano, C.: 74
 Cancela L.M.: 26
 Cárdenas, C.: 88, 90
 Carmona, E.: 51
 Carmona, E.M.: 82
 Carrasco-Pozo, C.: 77, 92
 Carreño, M.: 57
 Carreta, D.: 59
 Carretta, M.D.: 85
 Carrión, F.: 84
 Cassels, B.K.: 61, 65
 Castillo, C.: 66, 87
 Castillo, R.: 83, 92
 Castillo, S.: 60, 61, 66, 69
 Castro A.F.: 64
 Castro, L.: 83, 87
 Castro, V.: 83
 Castro-Castillo, V.: 88, 90, 91
 Cavalcante, M.F.: 54
 Cavieres, F.: 95
 Cayún, J.P.: 98
 Cayupe, B.: 54
 Cazanga, V.: 61
 Cerda, A.: 96, 97
 Cerda, B.: 98
 Cerda, F.E.: 72
 Cerda, T.: 94, 95
 Cerro R.P.: 58
 Céspedes, N.: 77
 Chávez, C.: 79
 Chen, C.: 92
 Chiong, M.: 88
 Chou, W.: 74
 Cid, F.: 79
 Coddou, C.: 50
 Concha, M.: 90
 Conejeros, I.: 85
 Constandil, L.: 61
 Contreras, C.: 53
 Contreras, E.: 67
 Contreras, S.: 97, 98
 Copaja, M.: 96
 Córdova-Delgado, M.: 88, 90, 91
 Cornejo, F.A.: 7
 Cornejo, P.: 69, 92
 Coronado, C.: 56
 Cortés, L.: 83, 87
 Cortez-San Martin, M.: 99
 Cruz, G.: 53, 72, 94, 95
 Cuevas, A.: 54

D

Dagnino-Subiabre, A.: 55
 Decker, A.: 61

Deehan, G.A.: 71
 Delgado, M.: 66
 Di Chiara, G.: 47
 Díaz Araya, G.: 52, 57, 81, 82, 84, 85, 86, 88, 99
 Díaz, A.: 60, 61, 66, 69
 Díaz, C.E.: 84
 Díaz CF: 78
 Díaz-Merino, C.: 62
 Díaz-Véliz, G.: 48, 66, 75
 Donoso, M.V.: 49, 54
 Dorea, E.L.: 96

E

Ehrenfeld, P.: 81, 89, 90
 Escalante, P.: 98
 Escobar, A.P.: 62
 Escobar-Luna, J.: 58, 70
 España, R.: 62
 Espina-Marchant, P.: 62
 Espinosa, P.: 53, 72
 Espinoza, M.P.: 63
 Estay, S.: 58

F

Fajardo, C.M.: 96
 Farías, J.G.: 83, 92
 Fariña, M.: 78
 Faúndez, M.: 87, 93
 Fernández, C.O.: 84
 Fernández, M.: 78
 Fernández, K.: 74, 79
 Fernández-Pérez, E.: 56, 63
 Fernandois, D.: 94
 Ferreira, J.: 83, 88, 89, 90, 91
 Fierro, H.: 96
 Figueroa, C.: 92
 Figueroa, C.D.: 81, 89, 90
 Flores, C.: 89
 Flores, C.A.: 93
 Fonseca, J.L.: 57
 Forman, K.: 78
 Fuentealba, C.: 63
 Fuentealba, J.: 60, 64, 65, 72, 94
 Fuentealba, J.: 66, 96
 Fuentealba, J.A.: 62
 Fuentealba, J.P.: 67
 Fuentes, C.: 78
 Fuentes-Retamal, S.: 88, 89, 91
 Fuentes-Villalobos F.: 64

G

Gallegos, S.: 63
 Gámiz, F.: 64
 García, A.: 76
 García, E.: 98
 García, L.: 82, 84, 86
 Garrido, G.: 74, 75, 76
 Garrido-Moreno, V.: 75
 Gauthier, M.A.: 84
 Gebicke-Haerter, P.: 68
 Godoy, B.: 98

Godoy, P.A.: 60, 64
 Godoy, R.: 56, 80
 Goity, L.: 74, 75
 Gómez, C.: 56
 Gómez-Gaete, C.: 79, 80
 González, D.: 60, 69, 94
 González, J.: 53, 54
 González, L.: 65
 González, L.F.: 53, 72
 González, M.P.: 62
 González-Arancibia C.: 58, 64
 González-Candia, A.: 83
 González-Chavarría I.: 58
 González-Lira, V.: 65
 González-Toro, M.P.: 64
 Gormaz, J.G.: 53, 54
 Gosukuma, M.C.: 96
 Gotteland, M.: 58, 62, 70, 77, 92
 Guerra, M.: 94, 95
 Guerra, N.: 66, 70
 Guimaraes, E.: 96
 Gutiérrez, A.: 69
 Gutiérrez, F.A.: 99
 Gutiérrez, N.: 75
 Gutiérrez-Hernández, M.A.: 65
 Guzmán, J.L.: 78
 Guzmán, L.: 65, 69, 72, 94
 Guzmán-Rivera, D.: 88, 89, 91
 Gysling, K.: 60

H

Hasson, D.: 53
 Hauser, S.R.: 71
 Heim, A.: 69
 Hermosilla-Betancur, J.: 79
 Hermoso, M.A.: 68
 Hernández, A.: 61
 Hernández, T.: 65, 69, 94
 Herrera, A.: 60, 61, 66, 69
 Herrera, E.A.: 83
 Herrera-Marschitz, M.: 57, 62, 65, 68, 69, 70, 71, 99
 Hidalgo, A.: 66
 Hidalgo, J.: 89
 Hidalgo, M.A.: 51, 56, 89
 Hirata, M.H.: 84, 96, 97
 Hirata, R.D.C.: 84, 96, 97
 Homanics, G.E.: 56
 Huenchuguala, S.: 60, 61, 66, 69
 Huidobro-Toro, J.P.: 46, 49, 54
 Humeres, C.: 84, 85
 Humeres, D.: 81, 82
 Israel, Y.: 70, 71, 99
 Iturriaga-Vásquez, P.: 66, 70

J

Jaña, L.: 60, 61, 65, 69
 Jara, J.: 88, 89, 90
 Jara, J.A.: 83
 Jeldres, J.: 59
 Jiménez, V.: 80
 Jiménez, V.A.: 78
 Jin, C.: 72
 Julio-Pieper M.: 58, 62, 64, 70, 86

K

Karahanian, E.: 70
 Kemmerling, U.: 82, 87, 90

Klagges-Troncoso, J.: 61
 Kogan, M.J.: 68
 Kurte, M.G.: 84

L

Labra, A.: 76
 Lagos, J.: 84
 Lamazares, E.: 99
 Landaeta, R.: 81, 85
 Lapiere, M.: 85
 Lara, H.E.: 57, 94, 95
 Lara, R.: 98
 Lara-Sanhueza, C.: 67
 Larrazabal, C.: 85
 Lee, K.: 98
 León, L.: 53, 54
 Lesmes-Fabián, C.A.: 59
 Leyton, L.: 57
 Libuy, M.: 53, 54
 Liempi, A.: 87
 Llanquino, V.: 92
 Llull, G.: 97
 López, J.: 61
 López, M.: 52
 López-Muñoz, R.: 82, 83, 85, 87
 López-Ortega, A.A.: 93
 Lorca, G.: 57

M

Madrid-Rojas, M.: 88, 90, 91
 Maimae, M.: 56
 Manosalva, C.: 56
 Mariqueo, T.: 77
 Mariqueo, T.A.: 56
 Martínez J.: 97
 Martínez, M.P.: 56
 Matus, C.E.: 81, 89, 90
 Maya, J.D.: 82, 83, 85, 87
 Medina, J.: 82
 Meléndez, C.: 60, 61, 66, 69
 Mena, J.: 56
 Meneses, C.: 89
 Miranda, C.: 98
 Miranda, H.F.: 67, 68
 Miranda, S.: 98
 Molina, J.: 66
 Molinett, S.: 77
 Montero, E.: 67
 Montesino, R.: 66
 Mora, S.: 48, 66, 75
 Moraga, F.: 73
 Moraga, J.: 73
 Morales, B.: 57
 Morales, J.: 78
 Morales, P.: 57, 62, 65, 68, 69, 70
 Moreno, R.D.: 51
 Morera, F.: 89
 Moya, I.: 84
 Moya, P.R.: 72
 Muñoz, B.: 56
 Muñoz, C.: 81
 Muñoz, N.: 63
 Muñoz, P.: 60, 61, 66, 69
 Muñoz, V.: 68
 Muñoz-Córdova, F.: 88, 90, 91
 Muñoz-Rodríguez, C.: 86
 Muñoz-Vio, V.J.: 68
 Murath, P.: 56
 Murillo, M.D.: 93

N

Navarrete, C.: 46
 Navarrete-Encina, P.A.: 99
 Navarro, H.: 61
 Nazzari, C.: 97
 Neira-Peña, T.: 57, 65, 68
 Ness, K.: 53, 54
 Noriega, V.: 67, 68
 Nova, D.: 65, 69, 94

O

Occhieppo, V.: 17
 Olavarría-Ramírez, L.: 86
 Olea-Azar, C.: 85
 Olgún, O.: 93
 Olgún, S.: 94, 95
 Olivares, G.: 74
 Olivera, J.: 79
 Opazo, C.: 63
 Orias, J.: 96
 Osses, N.: 51

P

Pacheco, C.: 63
 Paillamanque, J.: 51
 Palacios, E.: 69
 Pallarés, M.E.: 39
 Palma, C.: 59
 Palmieri, G.: 71
 Pancetti, F.: 64, 71, 73
 Parada, V.: 76
 Pardo-Jiménez, V.: 99
 Paredes, A.H.: 94
 París, I.: 60, 61, 66, 69
 Parra N.C.: 58
 Parra, A.: 72
 Parra, E.: 88, 89
 Pastene, E.: 76
 Pavani, M.: 88, 91
 Pavicic, M.F.: 81, 89, 90
 Paz, M.C.: 17
 Pelissier, T.: 61
 Peña, K.: 98
 Peralta, F.A.: 58
 Peredo, L.: 90
 Pérez, R.: 59
 Pérez-Lobos, R.: 69
 Pesce, B.: 83
 Pessoa, C.D.: 87
 Peters, C.: 63
 Pino, J.A.: 51, 82
 Pinto, G.A.: 96
 Piquer, B.: 57
 Plaza, M.A.: 93
 Poniachick, R.: 65
 Pozo, P.: 74
 Prieto J.C.: 53, 54, 67, 68, 97
 Prieto-Rayó, J.C.: 68, 97
 Pulgar, R.: 76

Q

Queirolo, C.: 86
 Quintanilla, M.E.: 65, 70, 71, 99
 Quiñones, L.: 97, 98
 Quiroz, G.: 66, 70

R

Radojkovic, C.: 80
 Ramirez, A.: 97
 Ramirez, A.: 60, 63, 64
 Ramirez, L.A.: 94, 95
 Ramirez, M.P.: 91
 Ramirez-Rodríguez, O.: 88
 Ramos, C.: 53, 54
 Realini, O.: 70
 Renard, G.M.: 53, 71
 Retamal, M.: 79
 Reyes, A.: 94, 95
 Reyes, J.G.: 51, 82
 Reyes-Parada, M.: 47, 66, 70
 Riquelme, R.: 53, 72, 95
 Rivas, P.: 50
 Rivas, V.: 96
 Rivera-Meza, M.: 70, 71, 99
 Riveros, A.: 68
 Rockel, M.: 74
 Roco, A.: 53, 98
 Rodd, Z.A.: 71
 Rodrigo, R.: 53, 54
 Rodríguez, I.: 17
 Rodríguez, M.S.: 97
 Rojas, P.: 57
 Rojas, R.: 96
 Rojas, S.: 98
 Rojas-Acuña, C.: 71
 Rojas-Espina, D.: 71
 Rojas-Mancilla, E.: 57, 68
 Rokic, M.: 50
 Romero, J.: 87
 Rosales, K.: 96
 Ruiz, D.H.: 84

S

Saavedra, N.: 54
 Sáez, K.: 96
 Sáez-Briones, P.: 61
 Sáez-Orellana F.: 60, 72
 Salazar, F.: 52
 Salazar, L.A.: 54, 84, 96, 97
 Salinas, N.: 60, 61, 66, 69
 San Martín, L.: 56, 65, 69, 94

San Martín, L.S.: 72
 Sánchez O.: 58, 99
 Sandoval, A.: 87
 Sandoval F.A.: 58
 Sandoval, R.: 71, 73
 Sandoval-Acuña, C.: 88, 91
 Sanguinetti, N.: 53, 72
 Santana, R.: 85
 Santander, O.: 58
 Sarmientos, J.M.: 89
 Schwarzbaum, P.J.: 50
 Seguel, V.: 83, 87
 Segura-Aguilar, J.: 60, 61, 66, 69
 Sepúlveda, M.: 59
 Sepúlveda, M.J.: 67
 Sepúlveda, M.J.: 56,
 Serrano, C.: 78
 Short, E.: 92
 Sierralta, F.: 67, 68
 Silva P.: 97
 Silva, F.: 65
 Silva, R.: 53, 71
 Silva, R.A.: 72
 Silva-Grecchi, T.: 64, 72
 Slachevsky, A.: 48
 Sommer, R.: 65
 Sotomayor, K.: 66
 Sotomayor-Zárate, R.: 53, 66, 70, 71, 72, 95
 Speisky, H.: 91
 Sridhar, A.: 46
 Stokilkovic, S.S.: 50
 Symon, A.: 69

T

Tapia, A.: 95
 Tapia, C.: 96
 Tapia-Ugarte, C.: 76
 Tapia-Vera, C.: 76
 Teuber, S.: 89
 Tirapegui, C.: 61
 Tiszavari, M.X.: 95
 Toledo, J.: 66
 Toledo, J.R.: 58, 80, 99
 Toro, B.: 87
 Torres, M.J.: 87
 Torres, M.R.: 98
 Troncoso, M.: 93

U

Uribe, E.A.: 56
 Urra, F.A.: 76, 88, 89, 90, 91
 Utreras, E.: 50

V

Valdés, J.L.: 57, 62
 Valdés, S.: 80
 Valencia, M.: 58, 63
 Valenzuela, J.: 73
 Valls, N.: 53, 54
 Varela, N.: 98
 Vargas, R.: 92
 Vega, A.I.: 84
 Vidal, F.: 80
 Videla, L.A.: 92
 Villalobos, C.: 89
 Villami, I.A.: 99
 Virgolini, M.B.: 26
 Vivallos, D.: 80
 Vivar-Sánchez, R.: 81, 82, 84, 85, 88
 von Bernhardt, R.: 7
 von Plessing, C.: 74, 78

W

Wong, X.: 77

Y

Yáñez, S.: 96
 Yévenes, G.E.: 67
 Yévenes, P.: 96
 Yzoard, M.: 96

Z

Zambrano, T.: 97
 Zanetta, P.: 67, 68
 Zaror S.: 66
 Zepeda, A.: 92
 Zuniga-Hernández, J.: 77

INTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

i) Tipos de Manuscritos:

- (a) Investigaciones Originales (Full papers): Trabajos que reportan investigaciones originales realizadas con procedimientos experimentales adecuados y según las guías nacionales e internacionales para el uso de sujetos de experimentación serán revisados para eventual publicación en la revista (ver preparación del manuscrito).
- (b) Comunicaciones Cortas (Short Communications): Reportes científicos originales cuyo tamaño debe ser de 1000 a 4000 palabras como máximo de extensión, incluyendo la leyenda de la figura (no se incluyen las referencias). Estos trabajos solo pueden incluir 1 figura y 1 tabla de resultados. En situaciones especiales se consideraran 2 figuras o 2 tablas. No deben ser usadas más de 15 referencias en el manuscrito
- (c) Revisiones (Reviews): Revisiones sobre temas relevantes de la Farmacología serán solicitados por el Editor en jefe o el comité editorial, a través de invitación escrita. Estas revisiones no requerirán una exhaustiva revisión editorial y serán publicadas en volúmenes temáticos de la Revista de Farmacología de Chile.
- (d) Columnas de Opinión u otras Publicaciones: Columnas de opinión sobre temas de contingencia nacional que involucren políticas públicas de medicamentos, correcto uso de medicamentos por parte de la población o la aparición y/o retirada de medicamentos en el mercado nacional, serán solicitadas por el Editor en jefe o el comité editorial, a través de invitación escrita.

ii) Detalles para el envío de Manuscritos:

El envío de manuscritos a la Revista de Farmacología de Chile para revisión (*Full papers, Short Communications o Reviews*) o solicitudes de columnas de opinión deben ser enviados a los siguientes correos electrónicos (ramon.sotomayor@uv.cl cc: pablo.jara@uv.cl). Se solicita colocar en el asunto del correo electrónico la siguiente frase: [Manuscrito para Rev.Farmacol.Chile](#)

iii) Preparación del Manuscrito:

- * Se recomienda el uso del programa para procesar texto Word de Microsoft Office. Cuando guarde el manuscrito que ha elaborado se solicita que la opción de guardado sea: Guardar como: "Documento de Word 97-2003".
- * El manuscrito debe ser escrito en formato "Times New Roman" tamaño 12, doble espacio y a una columna. Las páginas del manuscrito deben ser enumeradas en el borde inferior derecho con números arábigos.
- * Cualquier figura inserta en el manuscrito debe ser en formato TIFF, JPEG o BMP de alta resolución (600 dpi) y en caso de usar tablas se debe usar la opción insertar tablas de Word. No se recomiendan tablas hechas con la opción de insertar líneas.
- * Fotografías y gráficos a color son aceptadas para la versión digital, sin embargo en la versión impresa de la revista se utilizará la impresión en escala de grises. Además se recomienda verificar la calidad de la figura reduciéndola al tamaño de 1 columna de ancho, es decir 8 cm.
- * La Revista de Farmacología de Chile acepta trabajos en español, sin embargo previa autorización del comité editorial se podrán revisar trabajos en inglés o portugués.

iv) Estructura del Artículo:

iv.1) Investigaciones Originales y Comunicaciones Cortas:

Cada una de las secciones del manuscrito debe ser enumerada con números arábigos y cada subdivisión con la nomenclatura (X.1). No se considera en la enumeración el resumen (abstract).

Primera página:

- Título: El título del trabajo debe ser conciso e informativo. No se recomiendan abreviaciones de palabras en el título. Se debe incluir el título del trabajo en inglés.
- Nombre de los autores y Filiación: Se solicita indicar el nombre de cada autor y su apellido. Se acepta incluir la inicial del segundo nombre, aunque no es obligatorio. Al término de cada apellido se solicita colocar un número arábigo en superíndice que relacionará al autor con su respectiva filiación.
- Autor Correspondiente: Se debe indicar claramente al autor correspondiente del trabajo, incluyendo: Nombre, Dirección Postal, Teléfono, Fax y Correo Electrónico.

Segunda página:

- Resumen (Abstract): La extensión máxima del resumen es de 300 palabras y debe describir claramente el propósito de la investigación, los principales resultados y principal conclusión del trabajo. El resumen debe ser escrito en español e inglés.
- Palabras Claves: Se deben incluir palabras claves que permitan identificar los aspectos más importantes del trabajo. No incluir más de 10 palabras claves. Las palabras claves deben ser escritas en español e inglés.

Tercera y más páginas:

- Introducción: La introducción al tema a discutir en el trabajo no debe tener una extensión superior a las 750 palabras.
- Materiales y Métodos: Se debe detallar claramente todos los materiales y metodologías utilizadas en el desarrollo del trabajo. Además se debe explicitar en consentimiento bioético de la institución donde fue realizada la investigación. Los trabajos realizados en humanos deben incluir el apego experimental a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, considerando consentimiento informado y aprobación de comité de ética.
- Resultados: Se debe incluir en detalle los principales resultados obtenidos, con sus respectivos análisis estadísticos. No se aceptarán trabajos para publicar que no tengan un adecuado tratamiento estadístico. La expresión gráfica de resultados puede ser realizada a través

de gráficos de 1 columna de ancho (8 cm) o agrupaciones de gráficos con un ancho máximo de dos columnas (16 cm). También se pueden incluir tablas que detallen resultados relevantes para el trabajo, incluyendo número de casos y valor de la significancia *p*.

- **Discusión de los Resultados:** La discusión de resultados debe ser objetiva y se debe evitar una excesiva discusión bibliográfica que reste valor a los resultados presentados en el manuscrito. Es recomendado una conclusión final que indique las proyecciones de la investigación.
- **Agradecimientos:** Se pueden incluir las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo, indicando claramente a que autor corresponde la fuente de financiamiento. También se pueden incluir agradecimientos a personas que prestaron ayuda técnica o de revisión del manuscrito. En esta sección se debe declarar si existió conflicto de interés. En caso de no haber conflicto de interés se debe mencionar esta situación. Se recomienda consultar la siguiente dirección URL <http://zl.elsevier.es/es/revista/neurologia-295/conflicto-intereses-publicaciones-cientificas-90101004-editorial-2012> para aclarar en concepto y situaciones de conflicto de interés.
- **Referencias:** En el texto se deben citar las referencias con el apellido del primer autor, sus iniciales y el año de la publicación. En la sección de referencias se deben ordenar las mismas por orden alfabético. Se recomienda utilizar algún programa de manejo de referencias como EndNote con el formato de referencias de Journal of Neurochemistry.

Ejemplos:

Semenova M. M., Maki-Hokkonen A. M., Cao J., Komarovski V., Forsberg K. M., Koistinaho M., Coffey E. T. and Courtney M. J. (2007) Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. *Nat. Neurosci.* 10, 436-443.

La abreviación de los títulos de las revistas debe de acuerdo a el listado de revistas indexadas en *Index Medicus* (Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, DC 20402, USA, DHEW Publication No. 95-267). Ejemplo: *Acta Neurol. Scand. Acta Physiol. Scand. Anal. Biochem. Arch. Biochem. Biophys. Biochem. J. Biochem. Pharmacol. Biochim. Biophys. Acta Biol. Chem. Hoppe Seyler Br. J. Pharmacol. Eur. J. Pharmacol. Experientia J. Biol. Chem. J. Cell Biol. J. Mol. Biol. J. Pharmacol. Exp. Ther. J. Physiol. (Lond.) Mol. Pharmacol. Nature Proc. Natl Acad. Sci. USA Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Science*

iv.2) Revisiones:

Las revisiones de unidades temáticas serán solicitadas por el editor en jefe o por el co-editor, sin embargo para aquellas unidades temáticas específicas oficiara como co-editor algún miembro del comité editorial que sea especialista en el tema

Primera página:

- **Título:** El título del trabajo debe ser conciso e informativo. No se recomiendan abreviaciones de palabras en el título. Se debe incluir el título del trabajo en inglés.
- **Nombre de los autores y Filiación:** Se solicita indicar el nombre de cada autor y su apellido. Se acepta incluir la inicial del segundo nombre, aunque no es obligatorio. Al término de cada apellido se solicita colocar un número arábigo en superíndice que relacionará al autor con su respectiva filiación.
- **Autor Correspondiente:** Se debe indicar claramente al autor correspondiente del trabajo, incluyendo: Nombre, Dirección Postal, Teléfono, Fax y Correo Electrónico.

Segunda página:

- **Resumen (Abstract):** La extensión máxima del resumen es de 300 palabras y debe describir claramente el propósito de la investigación, los principales resultados y principal conclusión del trabajo.
- **Palabras Claves:** Se deben incluir palabras claves que permitan identificar los aspectos más importantes del trabajo. No incluir más de 10 palabras claves.

Tercera y más páginas:

- **Introducción:** La introducción al tema a discutir en el trabajo no debe tener una extensión superior a las 750 palabras.
- **Temas a Desarrollar:** Por cada tema que se pretenda desarrollar se debe entregar una visión objetiva que destaque los avances más importantes en la investigación científica. Se pueden desarrollar subtemas, destacando claramente a que unidad temática corresponde. Se recomienda si se revisa algún procedimiento experimental mencionar las ventajas y desventajas de su aplicación. Es recomendado una conclusión final que integre la información entregada en la revisión.
- **Agradecimientos:** Se pueden incluir las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo, indicando claramente a que autor corresponde la fuente de financiamiento. También se pueden incluir agradecimientos a personas que prestaron ayuda técnica o de revisión del manuscrito. En esta sección se debe declarar si existió conflicto de interés. En caso de no haber conflicto de interés se debe mencionar esta situación. Se recomienda consultar la siguiente dirección URL <http://zl.elsevier.es/es/revista/neurologia-295/conflicto-intereses-publicaciones-cientificas-90101004-editorial-2012> para aclarar en concepto y situaciones de conflicto de interés.
- **Referencias:** En el texto se deben citar las referencias con el apellido del primer autor, sus iniciales y el año de la publicación. En la sección de referencias se deben ordenar las mismas por orden alfabético. Se recomienda utilizar algún programa de manejo de referencias como EndNote con el formato de referencias de Journal of Neurochemistry.

Ejemplos:

Semenova M. M., Maki-Hokkonen A. M., Cao J., Komarovski V., Forsberg K. M., Koistinaho M., Coffey E. T. and Courtney M. J. (2007) Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. *Nat. Neurosci.* 10, 436-443.

La abreviación de los títulos de las revistas debe de acuerdo a el listado de revistas indexadas en *Index Medicus* (Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, DC 20402, USA, DHEW Publication No. 95-267). Ejemplo: *Acta Neurol. Scand.*

Acta Physiol. Scand. Anal. Biochem. Arch. Biochem. Biophys. Biochem. J. Biochem. Pharmacol. Biochim. Biophys. Acta Biol. Chem. Hoppe Seyler Br. J. Pharmacol. Eur. J. Pharmacol. Experientia J. Biol. Chem. J. Cell Biol. J. Mol. Biol. J. Pharmacol. Exp. Ther. J. Physiol. (Lond.) Mol. Pharmacol. Nature Proc. Natl Acad. Sci. USA Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Science

Leyendas para las Figuras

Los títulos y leyendas de las Figuras deben presentarse en forma clara y corta. Se debe identificar y explicar todo símbolo, como flecha, número o letra que haya empleado para señalar alguna parte de las ilustraciones. En la reproducción de preparaciones microscópicas, explícite la ampliación y los métodos de tinción empleados.

Unidades de Medida y Nomenclaturas.

Use unidades correspondientes al sistema métrico decimal. Las abreviaturas deben ser definidas la primera vez que aparecen en el texto. El listado de abreviaturas debe ser de acuerdo a la siguiente publicación Biochem. J. (1978) 169, 1-27. Al finalizar este instructivo se mencionan las abreviaturas que no deberían ser definidas (el listado esta en idioma inglés).

La nomenclatura que se refiere a drogas y sustancias químicas no terapéuticas deben nombrarse de acuerdo a la nomenclatura IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Mientras que para fármacos solo se acepta el nombre genérico INN (DCI). Respecto a los nombres de fantasía solo pueden ser nombrados entre paréntesis con el signo ® siempre que esté registrada la patente y que no exista un conflicto de interés evidente con el laboratorio fabricante del fármaco.

Publicación de Artículos:

- Los artículos originales de investigación o de revisión serán evaluados por un comité especializado. Sin embargo para aquellos trabajos de revisión agrupados por unidades temáticas específicas, el editor en jefe de la revista y el co-editor del número, antes de aceptar los manuscritos revisarán que se cumplan a cabalidad las instrucciones antes detalladas.
- Los artículos originales de investigación que no se agrupen en unidades temáticas específicas y que sean aceptados para publicación, serán publicados en el volumen y número del congreso anual de la Sociedad de Farmacología de Chile. La fecha aproximada de publicación será comunicada a los autores con suficiente antelación.
- Respecto a la revisión de artículos originales los revisores enviarán al Editor en Jefe, los cambios propuestos, sus opiniones, sus proposiciones, rechazos, etcétera, las cuales serán comunicadas a los autores con absoluta confidencia.
- Las publicaciones de artículos originales tendrán un costo de UF 0,3 por página que servirán para la manutención de la Revista.

Abreviaciones Permitidas:

ADP, CDP, GDP, IDP, UDP, 5(pyro)-diphosphates of adenosine, cytidine, guanosine, inosine, and uridine AMP, etc.-5-phosphates of adenosine, etc. ANOVA, analysis of variance ATP, etc.-5` (pyro)-triphosphates of adenosine, etc. ATPase, adenosine triphosphatase bp, base pair Ci, curie CoA and acyl-CoA-coenzyme A and its acyl derivatives (e.g., acetyl-CoA) cpm, counts per minute CNS, central nervous system CSF, cerebrospinal fluid Cyclic AMP, 3,5-cyclic adenosine monophosphate Cyclic GMP-3,5-cyclic guanosine monophosphate DNA, deoxyribonucleic acid DNase, deoxyribonuclease DOPA, 3,4-dihydroxyphenylalanine dpm, dps-disintegrations per minute, disintegrations per second EDTA, ethylene-diaminetetraacetate EEG, electroencephalogram EGTA, ethyleneglycol bis(aminoethylether)tetraacetate ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay FAD, FADH₂, flavin-adenine dinucleotide and its reduced form FMN, flavin mononucleotide g, average gravity GABA, gamma-aminobutyric acid (not Gaba) GLC, gas-liquid chromatography GSSG, GSH, glutathione, oxidized and reduced forms h, hour HEPES, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid HPLC, high performance liquid chromatography Ig, immunoglobulin IR, infrared kb, kilobase kDa, kilodalton ìm, micron min, minute MPP⁺, 1-methyl-4-phenylpyridinium MPTP, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine NAD⁺, NADH-oxidized and reduced forms of nicotin-amide-adenine dinucleotide NADP⁺, NADPH-oxidized and reduced forms of nicotin-amide-adenine dinucleotide phosphate NAD, NADP may be used when the oxidation state need not be indicated NMDA, N-methyl-D-aspartate NMN, nicotinamide mononucleotide NMR, nuclear magnetic resonance PCR, polymerase chain reaction Pi, orthophosphate (inorganic) PNS, peripheral nervous system PPI, pyrophosphate (inorganic) rpm, revolutions per minute RNA, ribonucleic acid RNase, ribonuclease RT, reverse transcription s, second SEM, standard error of mean SD, standard deviation TLC, thin-layer chromatography Tris, 2-amino-2-hydroxymethylpropane-1,3-diol UV, ultraviolet